

UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAGE DER LOKALEN
GAMMAGLOBULINTHERAPIE VON MASTITIDEN
BEIM RIND

Ruprecht Wiener

1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität München
Vorstand : Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. H. Buschmann

UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAGE DER LOKALEN GAMMAGLOBULINTHERAPIE
VON MASTITIDEN BEIM RIND

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Ruprecht Wiener
aus
Rottenburg/Neckar

München 1977

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München

Dekan : Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent : Prof. Dr. H.G. Buschmann
Korreferent : Prof. Dr. K. Walser

Tag der Promotion : 29. Juli 1977



DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
<u>1. Einleitung</u>	1
<u>2. Schrifttum</u>	2
2.1. Therapie akuter Mastitiden	2
2.2. Therapie chronischer Mastitiden während der Laktation	4
2.3. Therapie subklinischer Mastitiden während der Trockenperiode	4
2.4. Ausscheidung von Antibiotica mit der Milch	4
2.5. Ausscheidung von Sulfonamiden mit der Milch	6
2.6. Keimresistenz bei Antibiotica-Applikation	7
2.7. Vaccinierung	8
2.8. Gammaglobulintherapie	11
<u>3. Material und Methodik</u>	18
3.1. Serumgewinnung	18
3.2. Erregernachweis	18
3.3. Bakterien-Agglutinationstest	18
3.4. Herstellung der Gammaglobulinpräparationen	19
3.5. In vitro Test der Gammaglobulinpräparationen mit Hilfe des Agglutinationstests und des Bakterizidietests	19
3.6. Immunelektrophorese der beiden Gammaglobulinpräparationen	20
3.7. Therapie durch intrazisternale Applikation des Serumpools	21
<u>4. Ergebnisse der 1. Versuchsreihe (Serum-pool I)</u>	22
4.1. Tiermaterial zur Serumgewinnung	22
4.2. Ergebnisse der Agglutinationstests der Seren W 1 - W 25	26
4.3. Ergebnisse des Agglutinationstests der beiden Gammaglobulinpräparationen	32
4.4. Ergebnisse der Immunelektrophorese der beiden Präparationen	34

	Seite
4.5.	Bakterizidietest der Gammaglobulinpräparationen AS 1 und RV 1 35
4.6.	Therapie durch Applikation der Gammaglobulinpräparationen 36
4.7.	Auswertung des Therapieerfolges 39
<u>5.</u>	<u>Ergebnisse der 2. Versuchsreihe (Serum-</u> <u>pool II)</u> 42
5.1.	Tiermaterial zur Serumgewinnung 42
5.2.	Ergebnisse der Agglutinationstests der Seren W 26 - W 43 46
5.3.	Ergebnisse der Agglutinationstests der beiden Gammaglobulinpräparationen 54
5.4.	Ergebnisse der Immunelektrophorese der beiden Präparationen 56
5.5.	Bakterizidietest der Gammaglobulinpräparationen AS 2 und RV 2 57
5.6.	Therapie durch Applikation der Gammaglobulinpräparationen 59
5.7.	Auswertung des Therapieerfolges 62
<u>6.</u>	<u>Diskussion der Ergebnisse</u> 65
<u>7.</u>	<u>Zusammenfassung</u> 68
<u>8.</u>	<u>Literaturverzeichnis</u> 70

1. Einleitung

Die Milchleistung der Kühe in der Bundesrepublik Deutschland ist 1975 gegenüber dem Vorjahr um durchschnittlich 63 kg auf 3997 kg je Tier gestiegen. Die Zunahme war damit doppelt so groß wie im vergangenen Jahr. Sie ist vor allem auf den verstärkten Einsatz von Milchleistungsfutter zurückzuführen, das preiswerter war als 1974. Außerdem wurde der Kraftfuttereinsatz durch einen höheren Milchauszahlungspreis gefördert. Die Milchproduktion ist 1975 um 95 000 Tonnen oder 0,4 % auf 21,6 Millionen Tonnen gestiegen, obgleich der Kuhbestand mit durchschnittlich 5,41 Millionen Tieren um 81 000 Stück zurückgegangen ist (BMELF 1976).

Nach GAUDLITZ und CZERNICKI (1971) entstehen der deutschen Landwirtschaft jährlich infolge Eutererkrankungen und den damit verbundenen Behandlungskosten sowie der Ausmerzungen unwirtschaftlich gewordener Tiere Schäden von etwa 550 Millionen DM. Nach TOLLE (1971) ergibt sich für eutererkrankte Kühe eine durchschnittliche Minderleistung von 9,2 % gegenüber eutergesunden Tieren. Im Vergleich zu den getilgten klassischen Seuchen unserer Rinderbestände, die jeweils durch spezifische Erreger verursacht waren, sind die Ursachen von Eutererkrankungen komplex. Zwei Kräftegruppen stehen sich im Wechselspiel gegenüber : die genetisch bedingte Resistenz und erworbene Immunität des Organismus einerseits und eine Vielzahl von Umwelteinflüssen andererseits. Hierbei prägen die euteropathogenen Infektionserreger (vor allem Streptokokken und koagulasepositive Staphylokokken, Mikrokokken, ferner coliforme Bakterien, *Corynebacterium pyogenes* u.a.) oftmals das Krankheitsgeschehen. Diese Umwelteinflüsse werden weitgehend durch die an die Tiere gestellten Leistungsforderungen bestimmt. Mastitiden können nicht wie klassische Seuchen ausgeremert werden.

2. Schrifttum

2.1. Therapie akuter Mastitiden

Nach MERK (1976) spielt die akute Euterentzündung in der tierärztlichen Praxis eine große Rolle, obgleich die Zahl der erkrankten Tiere im Verhältnis zur gesamten Kuhzahl (3,3 % nach WALSER und Mitarbeiter 1972) als auch in Relation zur Gesamtzahl erfaßter Mastitiden (2,2 % nach KLATT und WESTERMANN 1950) als niedrig angesehen wird. Am akuten Entzündungsgeschehen können fast alle bekannten euterpathogenen Erreger , einzeln oder als Mischinfektion beteiligt sein. Die klinischen Erscheinungen lassen keine gesicherten Rückschlüsse auf die Erregerart zu. Diese Schwierigkeiten zwingen in der Regel zunächst zur Einleitung einer ungezielten Therapie. Bleibt die therapeutische Maßnahme erfolglos, so sollte eine Probeentnahme des Mastitiserregers und Erstellung seines Antibiogramms durchgeführt werden. Die verschiedenen Einflüsse auf den Ablauf des Entzündungsgeschehens machen es unmöglich eine optimale Therapie zur Behandlung akuter Mastitiden zu empfehlen.

Tab. 1.

Wirkungsspektrum verschiedener Antibiotica und Sulfonamide :

Wirkung auf grampositive Keime	Wirkung auf gramnegative Keime	Wirkung auf grampos. u. gramneg. Keime
Penicillin	Polymyxin B	Sulfonamide
Oxacillin	Colistin	Streptomycin
Cloxacillin		Chloramphenicol
Spiramycin		Tetracycline
Erythromycin		Kanamycin
Oleandomycin		Framycetin
Novobiocin		Neomycin
Rifamycin		Gentamycin

Tab. 2.

Bakterizide Wirkung	Bakteriostatische Wirkung
Penicillin	Sulfonamide
Streptomycin	Chloramphenicol
Polymyxin B	Tetracycline
Colistin	Erytromycin
Neomycin	
Bacitracin	

Gaben hoher Dosen von Sulfonamiden (nach eigener Erfahrung am besten i.v. appliziert) oder von Antibiotica (am besten kombiniert) i.z. sind heute die wichtigste Maßnahme bei der Behandlung akuter Mastitiden.

Eine zusätzliche parenterale Applikation von Antihistaminen (HEIDRICH und RENK 1963) oder Corticosteroiden hat sich bewährt, ebenso das Auftragen antihistamin- und corticoidhaltiger Salben oder Linimente.

Das häufige Ausmelken des erkrankten Viertels zur Entfernung der Entzündungsprodukte ist notwendig, da infolge der antibiotischen Therapie das massenhafte Absterben der Mastitiserreger und somit das plötzliche Freiwerden größerer Toxinmengen eine zusätzliche Irritation des Drüsenparenchyms bewirken kann und akute Verschlechterung des Allgemeinbefindens durch eine Anreicherung der Toxine im Blut auslöst.

Die Applikation von Oxytocin bleibt manchmal ohne Erfolg, da geschädigte Myoepithelien nur eine unbefriedigende Oxytocin-Kontraktilität aufweisen (HEIDRICH und RENK 1963 , GLOOR 1966) .

Durch die i.z. Applikation von Fermenten wird die Auflösung von Entzündungsprodukten und Detritusmassen im Milchgangsystem und damit eine bessere Verteilung intramammär verabreichter Antibiotica erhofft (HEIDRICH und RENK 1963 , REISER 1967) . Dazu kommt selbstverständlich bei schwerer Störung des Allgemeinbefindens die symptomatische Therapie (Kreislaufstützende Maßnahmen) .

2.2. Therapie chronischer Mastitiden während der Laktation

Die chronischen Mastitiden machen den weitaus größten Teil der Entzündungen aus, von denen wiederum die meisten ohne klinische Veränderungen (subklinische Mastitiden) einhergehen.

Zur Behandlung chronischer Mastitiden werden fast ausschließlich Antibiotica und Sulfenamide verwendet, wobei die lokale Applikationsform indiziert ist.

2.3. Therapie subklinischer Mastitiden während der Trockenperiode

Bevor eine Herde medikamentös trockengestellt wird, sollten zunächst die Mastitisserreger aus der Milch einiger subklinisch erkrankter Viertel von " Problemkühen " isoliert und ihr Verhalten gegenüber den üblichen Antibiotica geprüft werden. Anhand der ermittelten Ergebnisse ist dann das geeignete Langzeitpräparat zu wählen.

Ein Nachteil der eben besprochenen konservativen Behandlungsmethode ist neben der Resistenzbildung, auf die ich noch näher eingehen werde, das Problem der Rückstände von Antibiotica in der Milch

2.4. Ausscheidung von Antibiotica mit der Milch

Nach GEDEK (1973) können Antibiotica-Rückstände in der Milch zu gesundheitlichen Schäden beim Menschen führen und verursachen bei Überschreiten der Grenzkonzentration infolge der hohen Antibioticasensibilität der Milchsäurebildner schwere Störungen bei der Produktion fermentierter Milcherzeugnisse. Als Grenzkonzentration für Penicillin werden 0,01 - 0,03 IE/ml Milch angegeben.

Im allgemeinen werden nach intrazisternaler Applikation gleicher Dosen entsprechender Antibiotica höhere Milchspiegelwerte und längere Ausscheidungszeiten erreicht als bei Verabreichung auf jedem anderen Weg.

Verlauf und Persistenz der Antibiotica-Milchspiegel werden neben der Dosis des Wirkstoffes von einer Reihe von Faktoren derart beeinflusst, daß die Ausscheidungszeiten des Wirkstoffes mit der Milch zwischen mehreren Stunden und mehreren Wochen schwanken können. Die wichtigsten Faktoren sind :

2.4.1. Wasserlöslichkeit des Antibiotikums :

Leicht wasserlösliche Penicilline, wie Penicillin G-Natrium, werden schneller ausgeschieden und erreichen höhere Konzentrationen als gering wasserlösliche sog. Depot-Penicilline, wie Benzathin-Penicillin G.

2.4.2. Typ der Trägersubstanz :

Penicilline in einer wässrigen Trägersubstanz erreichen schneller hohe Konzentrationen und tendieren zu kürzeren Ausscheidungszeiten als Penicilline in Pflanzen- bzw. Mineralöl. Ein Zusatz von Aluminiummonostearat zur öligen Trägersubstanz ergibt eine Verzögerung der Ausscheidung.

2.4.3. Grad der pathologisch-anatomischen Veränderung des Eutergewebes :

Hier wurden unterschiedliche Befunde erhoben. Einerseits konnten in der Milch von Eutervierteln mit chronischer Mastitis nach Applikation von Penicillin G-Natrium oder Procain-Penicillin G in verschiedenen Trägersubstanzen höhere Milchspiegelwerte und längere Ausscheidungszeiten beobachtet werden als in der Milch gesunder Euterviertel, wobei dieser Befund mit der schlechteren Verteilung und Resorption des Antibiotikums infolge bindegewebiger Indurationen des Drüsengewebes erklärt wurde (EDWARDS , 1964). JACOBS und Mitarbeiter (1971) bemerkten dagegen nach Applikation von Procain-Penicillin und Dihydrostreptomycin in der Milch gesunder Euterviertel im allgemeinen eine höhere Penicillin-Konzentration und eine verzögerte Ausscheidung von Penicillin im Vergleich zu Eutervierteln mit Mastitis.

2.4.4. Milchleistung

Niedrige Milchleistung hat eine verzögerte Ausscheidung von Antibiotica zur Folge. Nach MERCER und Mitarbeiter (1970) tritt dieser Effekt dann besonders deutlich hervor, wenn die tägliche Milchleistung 9 kg nicht überschreitet.

Tab. 3.

Antibiotica-Rückstände nach intrazisternaler Applikation:

Antibioticum	Dosis/Viertel	Std.post applicationem	Rückstand/ml Milch in mcg
Procain-Penc.-G	100.000 IE	72	Spuren
in wässrig.Lösg.	300.000 IE	120	< 0,06
	500.000 IE	48-72	Spuren
Procain-Penc.-G	100.000 IE	96	Spuren
in öliger Susp.	300.000 IE	216	< 0,06
	500.000 IE	96	0,29
Streptomycin	300 mg	48	1,00
	500 mg	96	0,1-0,2
Chlortetracyclin	1000 mg	60	< 1,00
Oxytetracyclin	400 mg	24-72	Spuren
Chloramphenicol	500 mg	24	—

2.5. Ausscheidung von Sulfonamiden mit der Milch

Bei den hier zur Diskussion stehenden Sulfonamiden handelt es sich nach GEDEK (1974) eigentlich um Sulfanilamide, denn nur sie haben im Unterschied zu den als Diuretica und Antidiabolica verwendeten Sulfonamiden eine antibakterielle Wirksamkeit. Der Verlauf der Milchspiegelkurven nach intrazisternaler Sulfonamid-Applikation ist

abgesehen von der Dosierung auch stark abhängig von einzelnen Derivaten. Intrazisternal verabreichte Sulfonamide gelangen ins Blut und können dort sogar therapeutische Spiegel erreichen. Intrazisternale Gaben von 5 g Sulfanilamid bzw. 5 g Sulfamethazin in jeweils ein einziges Euterviertel pro Kuh ergaben entsprechende Blutplasmakonzentrationen bis zu 8 mcg/ml (nach 4 Stunden) bzw. 37,0 mcg/ml nach 1 Stunde. Dabei konnten auch in der Milch unbehandelter Euterviertel Sulfonamid-Milchspiegel im therapeutischen Bereich gefunden werden, wobei die Sulfanilamid-Gabe die vergleichsweise höheren Konzentrationen ergab. Bei oraler Applikation von Sulfonamiden betrug die hier beobachtete längste Ausscheidungszeit über die Milch 4 Tage.

24 Stunden nach Verabreichung von 8 Supronal pro Viertel wurden Konzentrationen bis zu 3053 mcg/ml Eutergewebe gefunden (RASMUSSEN, 1972). Andererseits führten Gaben von 5,2 g Sulfamerazin bzw. 5,0 g eines Gemisches von Sulfamerazin und Sulfapyridin (als Natriumsalze) zu maximalen Ausscheidungszeiten von nur 24 Std. bzw. 7 Std.

In der Anlage 70 " Anforderungen, denen zur Abgabe an Verbraucher oder zur Herstellung von Erzeugnissen bestimmte Rohmilch entsprechen muß ", Nr. 7 zum § 1 Absatz 1 und 2 der ersten Verordnung zur Ausführung des Milchgesetzes heißt es : Stoffe mit antibiotischer Wirkung (Hemmstoffe) dürfen nicht nachweisbar sein. Daher müssen die auf den Arzneimitteln angegebenen Wartezeiten für die Milchabgabe genau eingehalten werden. Das Freisein der Milch von Hemmstoffen wird bereits als Kriterium für die Gütebezahlung der Anlieferungsmilch herangezogen. In Bayern ist monatlich durch eine Probe der Anlieferungsmilch die Freiheit von Hemmstoffen zu ermitteln, wobei im positiven Fall die Milch in Güteklasse III eingestuft wird, was einen Abzug von 4 Pf. je kg der im betreffenden Monat angelieferten Milchmenge zu Folge hat (VO über die Gütebezahlung der Anlieferungsmilch ; Güteverordnung vom 27. September 1972).

2.6. Keimresistenz bei Antibiotica-Applikation

Zu dem Problem der Antibiotica- und Sulfonamidrückstände in der Milch bei der konservativen Behandlungsmethode der Mastitiden kommt noch ein weiteres, nämlich das Problem der Resistenzbildung.

Nach VARGA und KORZENSZKY (1974) zeigten in vitro-Versuche bei *Staphylococcus aureus*, *Staph. albus*, *Salmonella typhi-murium*, *Salmonella cholerae-suis* und *E.coli*-Arten, daß sich bei diesen Erregern verhältnismäßig rasch, d.h. nach 17....59 Passagen eine adaptive Resistenz gegen Oxytetracyclin entwickelt. Es wurde bei o.g. Erregern, mit Ausnahme von *Staph. aureus*, eine graduelle Resistenzentwicklung beobachtet. Die Resistenz erstreckt sich bis zu 200 mg/ml. Neben der Resistenz gegen Oxytetracyclin entwickelt sich auch eine Kreuzresistenz gegen Chloramphenicol. Die Resistenz bzw. Kreuzresistenz erstreckt sich auf so hohe Dosen von Oxytetracyclin bzw. Chloramphenicol, daß keine erfolgreiche Antibiotica-Therapie in vivo möglich ist.

Aus Kadavern von infizierten Saugkälbern und Saugferkeln wurden 81 *E.coli*-Stämme isoliert. (VARGA, KORZENSZKY, 1974). Mehr als 75 % dieser Stämme zeigten eine Resistenz gegen mindestens ein Antibioticum. Diese Eigenschaften, d.h. Resistenz einem Antibioticum oder mehreren Antibiotica gegenüber, konnten bei etwa 33 % der resistenten Stämme auf empfindliche *E.coli*-Stämme übertragen werden. Die Übertragene Resistenz erstreckt sich auf Dosen bis 200 mg/ml und war in vitro bei mindestens 20 Passagen beständig. Da nun die Mastitiden einen riesigen finanziellen Verlust für den Tierhalter mit sich bringen durch :

1. verminderte Milchleistung
2. Milch darf erst 5 Tage nach der letzten Behandlung geliefert werden
3. irreparable Schäden des Euterparenchyms
4. Tierarztkosten

und die konservative Behandlungsmethode die Problematik der Antibiotica-Rückstände und Erregerresistenz einschließt, ist man in der ganzen Welt mit großer Anstrengung auf der Suche nach neuen Behandlungswegen.

2.7. Vakzinierung

Die im Zusammenhang mit der Vakzinierung von Rindern betriebenen Studien von GEDEK (1972) registrieren im wesentlichen Höhe und Verlauf des Antikörpertiters im Blut, Kolostrum und Milchserum

bei nichtvakzinierten und vakzinierten Tieren sowie Schutzwirkung gegenüber der experimentellen bzw. natürlichen Infektion. Aus nahezu allen Untersuchungen ging hervor, daß Kühe mit akuten oder chronischen Staphylococcen-Euterinfektionen höhere alpha-Antitoxintiter im Blut sowie im Milchserum haben als gesunde Tiere. Ebenso zeigte sich, daß eine subkutane oder intramuskuläre Injektion von Toxoid im allgemeinen zu einem Anstieg des Antitoxingehaltes im Blut führte (SLANETZ et al. , 1965). Toxoid allein erwies sich nicht als so wirksam wie Toxoid und abgetötete Staphylococcen (RAMON et al., 1953) oder Aluminiumhydroxid (RAMON et al., 1962 b) bzw. Kaliumaluminium (RAMON et al., 1953). Die höchsten Antitoxintiter wurden nach Behandlung mit Toxoid und Aluminium bzw. Aluminiumhydroxid erzielt. THORNE et al. (1963) fanden statistisch signifikante Unterschiede im Anstieg des alpha-Antitoxintiters nach subkutaner bzw. intramuskulärer Verabreichung einer alpha- und beta-Toxoid sowie abgetötete Staphylococcen enthaltenden Vakzine. 14 Tage nach der zweiten Injektion wies die intramuskulär behandelte Gruppe einen höheren Antitoxinanstieg im Blut auf.

Aus einigen Arbeiten geht hervor, daß nach intramammärer künstlicher Übertragung von Staphylococcen der alpha-Antitoxintiter im Milchserum anstieg. DERBYSHIRE (1960) verabreichte vakzinierten Kühen jeweils 10 ml steriles destilliertes Wasser intramammär, um eine Erhöhung der Leukozytenzahl in der Milch zu erreichen. Bereits dieser Reiz genügte, um einen deutlichen Anstieg der alpha-Antitoxinwerte im Milchserum hervorzurufen. DERBYSHIRE deutete diesen Befund nicht als Beweis einer lokalen Antikörperbildung, sondern als Folge einer Reizung des Alveolarepithels, die die Permeabilität für im Blut zirkulierende Antikörper erhöht hat.

Eine stärkere Antikörperbildung nach intramammärer Vakzinierung als nach subkutaner beobachteten RICHOU et al. (1961). Sie injizierten trächtigen Kühen eine Mischung gleicher Teile Staphylococcen-Toxoid und einer Suspension abgetöteter Staphylococcen intramammär und prüften den Antikörpertiter im Serum und im Sekret der Euterviertel vor und nach dem Kalben. Während der Antitoxingehalt in der Milch rasch absank, persistierte er im Blut bis zu 15 Tage nach dem Abkalben. Alpha- und beta- Antitoxine haben wahrscheinlich wenig oder

gar keinen Wert zur Verhütung von Euterinfektionen bei Kühen, die die Substanz als Folge natürlicher Infektionen bilden, während ihre Rolle im Zusammenhang mit der Vakzinierung ungeklärt ist (BROWN, 1960). Ebenso dürften die im Blut oder der Milch vorhandenen Antitoxine zur Eliminierung bereits bestehender Infektionen führen. Der Nachweis von alpha-Antitoxinen im Blut oder Milchserum bei Kühen konnte mit keinen diagnostischen Konsequenzen in Zusammenhang gebracht werden (GUALINI und BERTONI , 1964).

Tab. 4.

Einfluß einer intramuskulären Vakzinierung mit Staphylococcen-Toxoid auf Staph. aureus-Infektionen und Mastitiden beim Rind.

Ergebnis	Untersucher
Verhütung der Ausbreitung von Staph.aureus-Euterinfektionen und Reduktion der akuten Staph.aureus-Mastitiden bei vakzinierten Tieren	SLANETZ et al. (1959)
Erhöhte Resistenz gegenüber Staph.aureus-Infektionen mit dem homologen, aber nicht mit einem heterologen Stamm, Reduktion des Auftretens und der Schwere klinischer Fälle bei vakzinierten Tieren.	BLOBEL und BERMAN (1962)
Keine Unterschiede bei vakzinierten Tieren und der Kontrollgruppe	DERBYSHIRE und EDWARDS (1963)
Erhöhte Resistenz gegenüber der Euterinfektion und der klinischen Mastitis bei vakzinierten Tieren; Signifikante Reduktion neuer Staph.aureus-Euterinfektionen bei vakzinierten Tieren	SLANETZ et al. (1963) SLANETZ et al. (1963)
Erhöhte Resistenz gegenüber klinischen Mastitiden bei vakzinierten Tieren	SLANETZ et al. (1965)

erste Hinweise auf die Ausbildung einer lokalen Immunität im Zusammenhang mit der Staphylococcen - Mastitis beim Rind stammen von SCHALM (1944), der 2 vorher mit bakterienfreien Filtraten von Staph. aureus - Bouillonkulturen behandelte Euterviertel einer Kuh gegenüber einer nachfolgenden massiven, künstlichen Übertragung von Staph. aureus - Bouillonkulturen bemerkenswert resistent fand, wenn auch eine Infektion nicht zu verhindern war.

Keinen signifikanten therapeutischen Effekt gegenüber Staph.aureus -Euterinfektionen oder dem klinischen Verlauf der Mastitis bei 13 Kühen mit chronischen Mastitiden beobachteten OEHME und COLES (1967), nachdem die Kühe mit einer im Handel befindlichen, alpha- und beta-Toxoid sowie abgetötete Staphylococcen enthaltenden Vakzine wiederholt intramuskulär behandelt worden waren.

Die Praktikabilität einer regelrechten Eutervakzinierung erscheint nach den Befunden von KERR et al. (1959) stark eingeschränkt, die nach intramammärer Infusion von Staphylococcen - Toxoid schwere klinische Reaktionen des Euters beobachteten. Sie konnten auch nach der Toxoid - Infusion keine Antitoxine in der Milch nachweisen. NORCROSS und STARK (1970) betonten dagegen, daß zwar eine zufriedenstellende Stimulierung einer lokalen Antikörperbildung im Euter, wenn auch nicht für längere Zeit, möglich sei, bezweifelten aber auch die Praktikabilität dieser Methode, da das gegenüber fremden Substanzen extrem empfindliche Euterparenchym häufig mit schweren Entzündungssymptomen reagiere. Infusionen während der Trockenzeit seien eher angezeigt. Bei anderen Versuchen konnten DERBYSHIRE und SMITH (1969) keine Korrelation zwischen Antitoxin oder Agglutiningehalt und Resistenz gegenüber einer künstlichen Infektionsdosis finden.

Bei allen Vakzinierungsversuchen zeigte sich, daß verhältnismäßig wenig Versuchstiere verwendet wurden, so daß letztlich keine überzeugenden Aussagen gemacht werden können.

2.8. Gammaglobulintherapie

Nach WALZL, HUNYADY und RADU (1966) ist der Ausgangspunkt der Behandlung mit Gammaglobulinen die Herstellung eines Colostrumserumpools. Das Colostrumserum wird nach Caseinfällung mechanisch geklärt, keimfrei filtriert und zu einem Pool von mindestens 120 Litern vereinigt, womit das Colostrum von etwa 80 Spendern erfasst wird.

Einen Überblick über die relative Menge an Albuminen und Globulinen, sowie den absoluten Eiweißgehalt zweier Colostrumserumpools gibt WALZL et al. (1966) in nachfolgender Tabelle:

Tab. 5.

Proteingehalt nach Kjeldahl in % sowie prozentuale Verteilung der Globulinfraktionen zweier Colostrumserumpools in der Elektrophoreseauswertung

Pool	Protein- gehalt	α_1	α_2	β	γ
64.100	9,68	3,7 %	3,1 %	7,2 %	72,6 %
65.100	8,92	1,5 %	2,5 %	6,5 %	75,0 %

FEY und Mitarbeiter (1964) stellten das hochgereinigte Standard-gammaglobulin mit Hilfe einer Ammonsulfatpräparation, einer anschließenden Rivanol- und nochmaligen Ammonsulfatfällung her. Zwischengeschaltet wurde eine Dialyse gegen isotonische NaCl-Lösung. Die im Kaninchen mit dem gereinigten Präparat hergestellten Antiseren wiesen dennoch Spuren von Antikörpern gegen andere Antigene auf. Die Absorption der Antikörper wurde mit präcolostralem Kälberserum durchgeführt.

Immunologisch sollen keine Unterschiede zwischen Colostral- und Blutserumimmunproteinen bestehen, ein Untersuchungsergebnis, das auch von STECK (1962) bestätigt wird. LARSON und Mitarbeiter (1957) schließen deshalb auf eine Identität der Proteine, weil unmittelbar vor der Geburt ein deutlicher Abfall (10 - 30 %) der Blutserumproteine bei gleichzeitig erhöhtem Proteingehalt der Milchdrüse nachweisbar war. Der hohe Proteingehalt ist hauptsächlich auf β_2 - und γ_1 -Globuline zurückzuführen. PIERCE und FEINSTEIN (1965) konnten gleichfalls nachweisen, daß ein selektiver Transport maternalen Plasmas in das Colostrum innerhalb der Milchdrüse erfolgt.

Die Versuchsergebnisse erlauben in Anbetracht der Tatsache, daß Rinder-Gammaglobulin keine nennenswerten Mengen spezifischer Antikörper enthält, etwa folgende Schlüsse : Die Applikation des Gammaglobulinpräparates unmittelbar vor einer Infektion , führt zur unspezifischen Resistenzsteigerung, für die jedoch eine kritische Mindestmenge von Gammaglobulinen erforderlich ist. Die Resistenz ist zum Teil sekundärer Natur, wobei der bakteriziden Wirkung des Präparates untergeordnete Bedeutung zukommt. Eine zentrale Stellung der zellulären Abwehr bei diesem Phänomen ist wahrscheinlich. Inwieweit auch humorale Abwehrkräfte , wie z.B. rasch gebildete Gamma-1M-Globuline von Wichtigkeit sind, konnte mit dieser Versuchsanordnung nicht ermittelt werden. Bei der Verabreichung von Gammaglobulinen an den Patienten sind nach FISCHER und MANNING (1961) folgende Richtlinien zu beachten: Die Applikation von Gammaglobulinen an der Infektionsstelle ist am wirkungsvollsten. Eine perakute und akute Infektion erfordert die intravenöse Gabe, chronische Infekte die intramuskuläre. Die schlechte Verträglichkeit humaner Gammaglobulinpräparate seitens Personen mit mangelhafter Gammaglobulinsynthese gab Anlaß zu umfangreichen Untersuchungen. Man stellte fest, daß die antikomplementären Eigenschaften dieser Präparate für deren Unverträglichkeit zumindest teilweise verantwortlich seien. Diese Aktivität dürfte auf Aggregation von Globulinen beruhen. (BARANDUN und Mitarbeiter , 1964) .

Nach WALZL, HUNYADY und RADU (1966) ist es möglich mit Gamma-1M-Immunglobulinen eine Endotoxintoleranz passiv zu übertragen. Für den Erfolg der passiven Übertragung ist jedoch ein normal funktionierendes RES des Empfängers erforderlich. Die Experimente bewiesen, daß die Toxintoleranz ein immunologisches Phänomen darstellt. Es muß darauf hingewiesen werden, daß gerade in einem Colostrumserum-Pool der prozentuelle Anteil der beta-Fraktion, unter die auch die Gamma-1M-Globuline fallen, in der Elektrophorese relativ hoch ist. Hingegen kann die Funktion des RES durch eine Gammaglobulin-Gabe primär nicht beeinflusst werden.

Die Anwendung von Gammaglobulin-Präparationen bei E.coli Infektionen in der Praxis zeigt, daß bei Patienten, die bereits zur Zeit der Gammaglobulin-Applikation Störungen des Allgemeinbefindens aufweisen, eine Temperaturerhöhung über 40° Celsius für prognostisch infaust angesehen werden muß und daß man in derartigen Fällen sich nur mehr bei hochwertigen Zuchttieren zur Anwendung eines Präparates entschließen sollte. Die gleichzeitige Anwendung von Bacteriostatica ist unerläßlich.

Die antivirale Aktivität des Colostrum-Serums wurde eingehend von BÜRKI (1962) untersucht. Er berichtet, daß alle seine Entero-Virus-Isolate durch einen Colostrum-Serum-Pool mit signifikantem Titer neutralisiert wurden. Seine Beobachtungen decken sich mit denen CLIVERS (zitiert von BÜRKI und FEY , 1963).

Nach HÄSSIG (1964) können Gammaglobulin-Präparate bei Viruskrankheiten bestenfalls prophylaktische Wirkung entfalten. Der Wirkungsbereich der in ihnen enthaltenen Antikörper beschränkt sich lediglich auf den extrazellulären Raum, wo sie die Viren durch Neutralisation an der Zellpenetration hindern. Die therapeutische Beeinflussung manifester Viruskrankheiten erscheint somit als illusorisch.

Ein Beispiel, daß bei Virusinfekten die therapeutische Verwendung von Gammaglobulinen entgegen der Erwartung nicht völlig aussichtslos ist, bieten gewisse Herpesvirusinfekte, namentlich jene des Auges. Rezidivierende Herpesvirusinfektionen des Auges, insbesondere der Cornea, aber auch der Uvea, zeigen nach Ansicht erfahrener Ophthalmologen in der letzten Zeit eine deutliche Zunahme hinsichtlich der Häufigkeit als auch ihrer Behandlungsresistenz. Von der Annahme ausgehend, daß die rezidivierenden, meist äußerst torpid verlaufenden, metaherpetischen Keratitiden besonders Individuen mit verminderter Resistenz befallen, hat BARANDUN (1964) in Zusammenarbeit mit verschiedenen Berner Augenärzten bei einer Reihe solcher Patienten Gammaglobulin intravenös in höherer Dosierung verabreicht. Die zum Teil überraschend guten Ergebnisse veranlaßten WITMER (1963) in Zürich zu einer systematischen Überprüfung dieser neuen Therapie. Auch er beobachtete bei der Mehrzahl der Fälle ein günstiges Ergebnis.

Nach WALZL, HUNYADY und RADU (1966) führte die Entwicklung auf dem Gebiet der Gammaglobulin-Präparate zum Erscheinen von Kombinationspräparaten. Ein Synergismus zwischen Chloramphenicol und Gammaglobulinen konnte experimentell bewiesen werden (FISHER und SAKO , zitiert nach BARANDUN und Mitarbeiter , 1962). Ebenso ist die gleichzeitige Applikation von Vitamin A zu empfehlen.

Auf Grund der guten Ergebnisse der Gammaglobulintherapie von Antikörpermängelizeuständen war es naheliegend, Gammaglobulin auch bei bakteriellen Infektionen ohne erkennbaren Antikörpermangel therapeutisch einzusetzen. BARANDUN (1964) hat sein eigenes, 160 solche Fälle umfassendes Krankengut kritisch gesichtet. Er gelangte auf Grund seiner mehrjährigen Erfahrung zum Schluß, daß hochdosierte Gammaglobulingaben imstande sind, gewisse bakterielle Allgemeininfektionen sowie vereinzelte akute bakterielle Organerkrankungen entscheidend zu bessern. Es handelt sich dabei fast ausnahmslos um Infektionen mit Epiphyten der inneren und äußeren Körperoberfläche, wie Staphylococcen, Streptococcen, Pneumococcen, Colibakterien, Pseudomonaceen und Spoor. In einer Reihe von antibiotica- und chemotherapieresistenten Allgemeininfekten erlangten die toxisch geschädigten, benommenen, oft komatösen Kranken bald ein klares Sensorium. Zugleich fielen die hochfebrilen Temperaturen lytisch ab.

In den letzten Jahren wurde vor allem aus Südafrika über den erfolgreichen Einsatz von Gammaglobulinpräparaten bei Mastitiden des Rindes berichtet (BUTES, 1970). BUTES hat bei der Herstellung der Gammaglobulinpräparationen das nach der Standardmethode mit Ammoniumsulfat präzipitierte Gammaglobulinkonzentrat nicht wieder in einer Phosphatpufferlösung gelöst, bevor es gegen destilliertes Wasser dialysiert wurde, da diese Verdünnung geringere Agglutinationstitere und einen schlechteren therapeutischen Effekt nach seinen Versuchen zur Folge hat. Der konzentrierte Gammaglobulinextrakt, der an den Segeltuchfiltern hingewaschen wurde, wurde mit rostfreien Stahlklingen abgeschabt und unverdünnt in Regenerationsgehäuse aus Zellulose gebracht, die vorher in Autoklaven sterilisiert wurden. Die Zellulosegehäuse, dicht gefüllt mit fast trockenem, konzentriertem Gammaglobulinpräzipitat, wurden in besonders dafür entwickelten Bädern

aus rostfreiem Stahl in einem Kühlschrank bei $0^{\circ} - 4^{\circ}$ Celsius zur Dialyse gebracht. Die Dialyse fand 6 - 8 Tage lang in vorgekühltem ($0^{\circ} - 4^{\circ} \text{C}$), laufendem Leitungswasser statt. Danach wurde das Dialysat mit 2 % Bariumchloridlösung auf die Anwesenheit von freiem Sulfat untersucht. Die Dialyse wurde fortgesetzt, bis der Test Sulfatfreiheit ergab.

Das Sediment wurde folgenden Tests unterzogen :

- a) Bestimmung des Gesamtproteingehaltes nach Kjeldahl ;
- b) Bestimmung der spezifischen Agglutinationstiter gegen *Staph. aureus*, *Staph. epidermidis*, *Strept. agalactiae*, *Strept. dysgalactiae*, *Strept. uberis*, *Ps. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *E.coli* ;
- c) Bestimmung der Reinheit der Gammaglobuline mit Hilfe der Immunelektrophorese ;

Im allgemeinen schwankte der Proteingehalt des konzentrierten Produktes zwischen 16 % und 24 % mit einem Durchschnitt von 19 - 20 % . Diese hohe Viskosität macht eine sterile Filtration oder sogar Vorfiltration unmöglich, deshalb wurde das konzentrierte Produkt entsprechend der vorläufigen Proteinbestimmung in steriler 0,85 % iger Natriumchlorid-Lösung zurückverdünnt auf eine Proteinkonzentration von etwa 8 - 10 % .

Das verdünnte Produkt wurde in Asbestfiltern vorgefiltriert, um unlösliche Verunreinigungen zu beseitigen. Die endgültige Sterilisation wurde mit Millipore-Filtern durchgeführt.

An die Gammaglobulinpräparation wurden folgende Forderungen gestellt : Proteingehalt von mindestens 7 % ; Reinheit der Gammaglobuline von mindestens 85 % und Agglutinationstiter von mindestens 1 : 6000 bis 1 : 25 000 gegen 16 repräsentative heterologe Antigene.

BOTES kommt in seinen umfangreichen Untersuchungen zu folgenden Ergebnissen :

- a) Immunglobulinpräparationen aus Blutpools von Kühen, die an chronischer Mastitis erkrankt waren, hatten höhere Titer gegen ein breiteres Spektrum von Erregern als Präparationen aus dem Blut von einzelnen Tieren und erwiesen sich als therapeutisch wirkungsvoller.

b) In vitro Tests, insbesondere im flüssigen Medium, zeigten, daß Immunglobuline mit Penicillin und Dihydrostreptomycin synergistisch wirken. Labor- und umfangreiche Feldversuche zeigten, daß 1 - 2,5 ml standardisiertes Immunglobulin in 17,5 - 19,0 ml normaler, physiologischer, steriler Kochsalzlösung, alleine oder zusammen mit 2000 I.E. Penicillin und 250 mg Dihydrostreptomycin pro Viertel höchst wirksam bei perakuter, akuter, chronischer und subklinischer Mastitis war. Es war auch wirksam bei durch gram-negative Bakterien hervorgerufenen Mastitiden, insbesondere gegen antibioticaresistente *Ps. aeruginosa*. Die Immunglobulintherapie war auch erfolgreich in Fällen, in denen vorhergegangene Antibiotica-Therapie fehlgeschlagen war. Die Therapie bei trockenstehenden Kühen war besonders erfolgreich.

Ziel der folgenden Untersuchungen war es, in einem Praxisversuch unter kontrollierten Bedingungen die Wirkung verschiedener Gamma-globulinpräparationen, die aus dem Serum mastitiskranker Kühe gewonnen worden waren, auf den Verlauf von Euterinfektionen beim Rind zu prüfen.

3. Material und Methodik

Der Versuch läuft ab wie folgt :

1. Serumgewinnung von mastitiskranken Kühen
2. Bakteriologische Untersuchung der Milchproben
3. Test der einzelnen Sera gegen die wichtigsten Mastitiserreger im Agglutinationstest
4. Herstellung der Gammaglobulinpräparationen
5. In vitro-Test der Präparationen gegenüber den wichtigsten Mastitiserregern mit Hilfe des Agglutinationstests und des Bakterizidtests.
6. Immunelektrophorese der Gammaglobulinpräparationen
7. Therapie durch intrazisternale Applikation des Serumpools

3.1. Serumgewinnung

Von 25 an Mastitis erkrankten Rindern wurden jeweils ungefähr 250 ml Blut aus der Vena jugularis entnommen. Nach 18 Std. wurde das klare Serum abpipettiert.

Von den Tieren wurde eine Liste angelegt, die Aufschluß gibt über : Besitzer, Rasse, Geburtsjahr, erkranktes Viertel, Verlauf der Mastitis, Allgemeinbefinden und den bakteriologischen Befund (Tabelle 6, W 1 - W 25) .

3.2. Erregerfeststellung

Aus dem jeweils erkrankten Euterviertel wurden 10 ml Milch entnommen und auf ihren Keimgehalt untersucht. Die gefundenen Keime sind ebenfalls in Tabelle 6 aufgeführt.

3.3. Bakterien-Agglutinationstest

Methodik : Die Bakterien werden in Dextrose-Nährbouillon angezüchtet, einmal in physiologischer Natriumchlorid-Lösung gewaschen und auf eine Dichte von 10^8 Keime / ml eingestellt. Nun werden in Röhrchen 1 ml der jeweiligen Serumverdünnung zusammengebracht, 1 Std. bei 37° geschüttelt, dann über Nacht im Kühlschrank inkubiert.

3.4. Herstellung der Gammaglobulinpräparationen

- a.) Ammonsulfatfällung : Zu 100 ml Serum von mastitiskranken Tieren (Pool von allen Serumproben) werden 90,8 ml gesättigte Ammonsulfatlösung dazugegeben unter langsamem , dauerndem Rühren. Der pH wird mit 2 N NaOH auf 7,4 eingestellt. Es wird 30 Min. weitergerührt. Das Sediment wird abzentrifugiert (30 Min. bei 1000 g) und in phosphatgepufferter Natriumchlorid-Lösung gelöst (100 ml Endvolumen). Anschließend wird nochmals mit 90 ml gesättigter Ammonsulfatlösung bei pH 7,4 gefällt, 30 Min. gerührt und zentrifugiert. Das Präzipitat wird wieder in PBS gelöst (Endvolumen 50 ml). Nun wird 4 Tage lang unter mehrmaligem Wechseln gegen destill. Wasser dialysiert, bis die Lösung mit 1 % BaCl_2 keine Trübung mehr zeigt. Das Sediment wird abzentrifugiert, steril filtriert und in 10 ml Portionen abgefüllt.
- b.) Rivanolfällung : Der pH des Serumpools wird auf 8,0 eingestellt und 1/3 Volumen Wasser dazugegeben. Auf 1 Teil des verd. Serums werden 1/2 Teil 2,4 % Rivanollösung (pH 8,0) dazugegeben unter dauerndem Rühren, dann 30 Min. stehengelassen, der Überstand wird weiterverwendet. Auf 100 ml Flüssigkeit gibt man 5 g festes Natriumchlorid unter Rühren hinzu, lässt sie bei 4° C über Nacht stehen, zentrifugiert das Rivanol ab und verdünnt den gelblichen Überstand etwa auf die Hälfte mit dest. Wasser (pH 7,0 einstellen). Dazu wird ein gleiches Volumen 4 M Ammonsulfatlösung, pH 7,0 tropfenweise dazugegeben. Das Präzipitat setzt sich 16^h bei 4° C ab, wird abzentrifugiert (20 Min. bei 2000 g), mit 2 M Ammonsulfatlösung (pH 7,0) gewaschen und in destill. Wasser-PBS (4 : 1) gelöst. Nun wird ausgiebig gegen destill. Wasser dialysiert und eine etwaige Trübung abzentrifugiert. Der klare Überstand wird sterilfiltriert und in 10 ml Portionen abgefüllt.

3.5. In vitro-Test der Gammaglobulinpräparationen mit Hilfe des Agglutinationstests und des Bakterizidietests.

Beide Präparationen werden zunächst im Agglutinationstest gegen die Keime *Escherichia coli* W 1 , *E.coli* W 2 , *E.coli* W 16 , *Staph. aureus* W 22 und *Pseudomonas aeruginosa* W 24 getestet. Als 2. Test wird

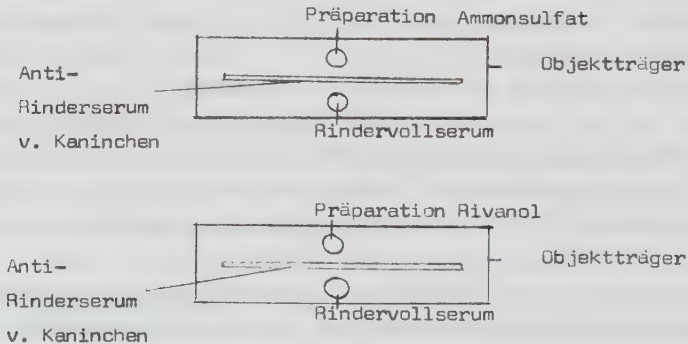
ein Bakterizidietest durchgeführt. Hierzu werden in Röhrchen angesetzt:

0,5 ml der Verdünnung der jeweiligen Präparation (unverdünnt, 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000) + 0,5 ml PBS + 1 Tropfen Standardnährbouillon + 0,1 ml der jeweiligen Bakteriensuspension. Es wird 4 Std. bebrütet (37°), nun gibt man 16 ml sterilen flüssigen Nähragar (45°) dazu, mischt und gießt auf sterilen Petrischalen aus. 24 Std. wird bei 37° bebrütet und die Zahl der gewachsenen Kolonien gezählt.

Kontrolle 1 (K 1) enthält nur 1 ml PBS , 1 Tropfen Nährbouillon und 0,1 ml Bakterienverdünnung und wird sofort ausgegossen (d.h. ohne 4-stündige Bebrütung) . Kontrolle 2 (K 2) wird wie Kontrolle 1 angesetzt, aber 4 Stunden bebrütet und dann erst mit Agar ausgegossen. Die Sterilitätskontrolle (SK) enthält 0,5 ml der jeweiligen Präparation, 0,5 ml PBS, 1 Tropfen Nährbouillon und wird nach 4 stündiger Bebrütung ausgegossen.

3.6. Immunelektrophorese der beiden Gammaglobulinpräparationen

Als nächster Test wurden Immunelektrophoresen durchgeführt nach folgendem Schema :



Die Immunelektrophorese wurde mit folgendem Puffersystem durchgeführt :

12,92 g Barbitol-Barbitalnatrium

8,93 g Natriumacetat

gelöst in 1 Liter Aqua dest. , pH 8,2 eingestellt,

vor Gebrauch verdünnt : 2 Teile Puffer + 1 Teil

Aqua dest.

Elektrophoresebedingungen : 140 Volt, 1 1/2 Std. Laufzeit.

Danach diffundiert das Antiserum aus der mittleren Rinne gegen die aufgetrennten Präparationen 48 Std. lang. Dann wird das nicht-präzipitierte Protein mit physiologischer Kochsalzlösung aus dem Agar ausgewaschen, die Objektträger zwischen Filterpapier getrocknet, in 2% Essigsäure (5 Minuten) vorbehandelt und dann mit 0,5% Amidoschwarz 10 B gelöst in Methanol-Eisessig (90 : 10 Teile) gefärbt. Anschließend wird in Methanol-Eisessig entfärbt.

3.7. Therapie durch intrazisternale Applikation des Serumpools

Behandlungsschema:

- a) Säuberung der Zitzenkuppe des erkrankten Euterviertels mit Hilfe eines steril verpackten Desinfektionstuches.
- b) Gewinnung der meist optisch veränderten Milch in ein steriles Reagenzglas zur Erregerfeststellung.
- c) völliges Ausmelken des erkrankten Euterviertels
- d) Instillation von 20,0 ml (AS oder Rivanol) Präparation mittels einer sterilen Spritze.
- e) Hochmassieren der Präparation
- f) Verweildauer der Präparation im Euter 12 bis 16 Std., danach zweimaliges Ausmelken im Abstand von etwa 8 Std..
- g) 48 Stunden nach der Serumapplikation erneute Gewinnung der Milch des erkrankten Euterviertels zum Erregernachweis, um den Therapieerfolg zu ermitteln.

4. Ergebnisse der 1. Versuchsreihe (Serumpool I)

4.1. Tiermaterial zur Serumgewinnung und Erregerfeststellung

In der Tabelle 6 (W 1 - W 25) handelt es sich um 25 an Mastitis erkrankte Kühe, denen Blut zur Herstellung eines Serumpools und Milchproben zur bakteriologischen Untersuchung entnommen wurden.

Bei den erkrankten Rindern handelt es sich um 23 Tiere der Rasse Gelbvieh und um 2 Tiere der Rasse Höhenfleckvieh.

Von diesen 25 Rindern waren 7 an akuter Mastitis, weitere 7 an chronischer Mastitis und 11 an subakuter Mastitis erkrankt.

Diese Einteilung erfolgt nach dem International Dairy Federation Annual Bulletin von 1971 :

Latente Infektion : In der Milch pathogene Organismen, jedoch normale Zellzahl

Subklinische Mastitis : Keine makroskopische Veränderung (Entzündungen) , jedoch bakteriologisch Infektion des Euters nachweisbar, erhöhte Zellzahl, Veränderung der chemischen Eigenschaften der Milch

Akute Mastitis : Entzündung des Euters (Schmerz, Schwellung, Hitze) , Milch makroskopisch verändert, die Tiere haben Fieber

Subakute Mastitis : Keine Euterveränderung, jedoch Klumpen besonders in der Anfangsmilch

Unspezifische, aseptische Mastitis : Keine nachweisbare Infektion des Euters, Symptome jedoch klinisch oder subklinisch

Chronische Mastitis : Ein Euterviertel spricht auf eine länger dauernde Behandlung nicht an, das Viertel kann atrophieren oder abnorme klinische Erscheinungen während einer langen Lebensspanne haben.

Tab. 6.

Übersicht über die mastitiskranken Kühe, die zur Blutprobenentnahme für die Herstellung des Serumpools I herangezogen wurden (W 1 - W 25)

Nr. Dat.	Besitzer Ort	Rasse	Geb.- datum	erkranktes Viertel Art der Mastitis	Allgemeinbefinden Milchbeschaffenh.	Bakteriolog. Befund
W 1 26.7. 74	Stadtel Ka.	Höhen- fleck- vieh	1969	vorne links akute Mastitis	Fieber (40°) keine Futteraufn. Milch:bräunl.weiße Flocken	E.coli +++
W 2 16.8.	Wolf K. Ka.	Gelb- vieh	1963	vorne rechts akute Mastitis	Fieber (39,8°) vermind.Futteraufn. Milch:gelbl.dünne Sekret	E.coli +
W 3 19.8.	Dappert Re.	Gelbv.	1960	vorne rechts akute Mastitis	Fieber (41,4°) keine Futteraufn. Milch:bräunl.Sekr.	E.coli +
W 4 19.8.	Buckel Hoh.	Gelbv.	1960	hinten links subakute Mastitis	ungestört Milch:kl.weiße Flocken	ohne Befund
W 5 30.9.	Beuschl Ka.	Gelbv.	1969	vorne rechts subakute Mastitis	ungestört Milch:kl.weiße Flocken	koagulaseneg Micrococc.
W 6 30.9.	Beuschl Ka.	Gelbv.	1971	vorne rechts subakute Mastitis	ungestört Milch:kl.weiße Flocken	E.coli +
W 7 7.10.	Schmitt Großl.	Gelbv.	1964	vorne rechts chron. Mastitis	ungestört Milch: grieselig	E.coli + , Proteus vulgaris ±

Nr. Dat.	Besitzer Ort	Rasse	Geb.	erkranktes Viertel Art der Mastitis	Allgemeinbefinden Milchbeschaffenh.	Bakteriolog. Befund
W 8 3.11. 74	Kreuzer Großl.	Gelbv.	1968	hinten links chron. Mastitis	ungestört Milch: flockig, weiß	E.coli +, koagulaseneg. Micrococc.+
W 9 10.10.	Müller Ka.	Gelbv.	1971	vorne rechts subakute Mastitis	ungestört Milch: cremig, weiß	Pilzver- dacht
W 10 15.10.	Beck Th.	Gelbv.	1969	vorne rechts chron. Mastitis	ungestört Milch: gelbl. Sekret u. gelbe Zotteln	ohne Befund
W 11 16.10.	Wagner Ka.	Gelbv.	1968	hinten rechts u. hinten links subakute Mastitis	ungestört Milch: gelbe Zot- teln	h.re.: koagu- laseneg. Micrococc.+ h.li.: ohne B.
W 12 21.10.	Hirsch Kt.	Gelbv.	1970	hinten links chron. Mastitis	ungestört Milch: grieselig bis schmierig	Enterobacter cloacae
W 13 21.10.	Herbolt Si.	Gelbv.	1969	hinten links subakute Mastitis	ungestört Milch: weiße Flock.	koagulaseneg. Micrococc.+
W 14 21.10.	Dappert Re.	Gelbv.	1961	alle 4 Viertel subakute Mastitis	ungestört Milch: weiße Flock.	h.li.: koag. neg. Microc. v.li., v.re. h.re.: ohne B.
W 15 23.10.	Englert Hoh.	Gelbv.	1971	hinten links subakute Mastitis	ungestört Milch: grieselig	E.coli +
W 16 24.10.	Brandm. Bie.	Gelbv.	1971	vorne links subakute Mastitis	ungestört Milch: flockig bis schlierig	E.coli 078 ++

Nr. Dat.	Besitzer Art	Rasse	Geb.- datum	erkranktes Viertel Art der Mastitis	Allgemeinbefinden Milchbeschaffenh.	Bakteriolog. Befund
W 17 27.10.	Wegmann Th.	Gelbv.	1969	hinten links akute Mastitis	Fieber(41,5°), keine Futteraufn. Milch:wässr., bräunl. Sekret	koagulaseneg. Micrococc.+
W 18 3.11.	Schorr Großl.	Gelbv.	1966	vorne links subakute Mastitis	ungestört Milch: flockig	koagulaseneg. Micrococc.+, E.coli 078 +
W 19 3.11.	Schloß- magl.Re.	Höhen- fleckv.	1966	hinten links chron. Mastitis	ungestört Milch:wenige, klein, weiße Flocken	α-haem. Strept. +
W 20 4.11.	Hanft Kt.	Gelbv.	1968	vorne rechts chron. Mastitis	ungestört Milch:weiße Zot- teln	ohne Befund
W 21 6.11.	Streck Großl.	Gelbv.	1970	hinten rechts akute Mastitis	Fieber(41,5°), Milch:weiße Flock.	ohne Befund
W 22 9.11.	Weber Bie.	Gelbv.	1968	hinten rechts akute Mastitis	Fieber(40,1°) Milch:weiße Flock.	Staph.aureus +
W 23 12.11.	Rabenst. Si.	Gelbv.	1969	hinten rechts chron. Mastitis	ungestört Milch:weiße Zot- teln	α-haem. Strept. +
W 24 19.11.	Pauscher We	Gelbv.	1966	hinten links akute Mastitis	Fieber(41,0°), Milch:br.-wässrig. Sekret mit Flock.	Pseudomonas aeruginosa ++
W 25 20.11.	Gernert Hoh.	Gelbv.	1966	hinten links subakute Mastitis	ungestört Milch: weiße Flock.	E.coli +

4.2. Ergebnisse der Agglutinationstests der Seren W 1 - W 25 gegen die wichtigsten isolierten Mastitiserreger aus Tabelle 6

Die Agglutinationstests der Seren W 1 - W 25 wurden in den Tabellen 7 a , 7 b , 7 c , 7 d und 7 e gegen folgende Erreger durchgeführt: E.coli von W 1 , E.coli von W 2 , E.coli O7b von W 16. Staph. aureus von W 22 und Pseudomonas aeruginosa von W 24.

Es muß noch darauf hingewiesen werden, daß alle isolierten Colistämme mit den Antiseren Anti-O7b , K 80 (B -) und Anti-O86 , K 61 (B ?) der Behringwerke getestet und für negativ befunden wurden, falls nicht anders angegeben. Das gilt für die ganze Untersuchung.

Tab. 7 a.

Agglutinationstest der Seren W 1 - W 25 gegen E.coli von W 1

Seren Nr.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	K
W 1	+++	++	±	-	-	-	-	-
W 2	±	-	-	-	-	-	-	-
W 3	++	+	-	-	-	-	-	-
W 4	+++	+	-	-	-	-	-	-
W 5	+++	++	+	-	-	-	-	-
W 6	+++	±	-	-	-	-	-	-
W 7	++	+	-	-	-	-	-	-
W 8	+	±	-	-	-	-	-	-
W 9	-	-	-	-	-	-	-	-
W 10	-	-	-	-	-	-	-	-
W 11	+++	++	±	-	-	-	-	-
W 12	-	-	-	-	-	-	-	-
W 13	+++	++	+	-	-	-	-	-
W 14	+++	+	-	-	-	-	-	-
W 15	+++	++	-	-	-	-	-	-
W 16	±	-	-	-	-	-	-	-
W 17	+++	+	-	-	-	-	-	-
W 18	-	-	-	-	-	-	-	-
W 19	+++	+++	-	-	-	-	-	-
W 20	-	-	-	-	-	-	-	-
W 21	-	-	-	-	-	-	-	-
W 22	-	-	-	-	-	-	-	-
W 23	+++	±	-	-	-	-	-	-
W 24	+++	±	-	-	-	-	-	-
W 25	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 7b.

Agglutinationstest der Seren W 1 - W 25 gegen E.coli von W 2

Seren Nr.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	K
W 1	++	+++	-	±	-	-	-	-
W 2	+	++	±	+	-	-	-	-
W 3	-	+	+	-	-	-	-	-
W 4	-	++	-	-	-	-	-	-
W 5	-	++	+	+	-	-	-	-
W 6	-	-	-	-	-	-	-	-
W 7	-	-	-	-	-	-	-	-
W 8	++	-	-	-	-	-	-	-
W 9	+	±	-	-	-	-	-	-
W 10	+++	+++	++	++	-	-	-	-
W 11	+	++	±	-	-	-	-	-
W 12	-	±	-	-	-	-	-	-
W 13	++	+++	+	-	-	-	-	-
W 14	+	++	++	++	+	-	-	-
W 15	+++	+++	++	++	+	-	-	-
W 16	-	-	-	-	-	-	-	-
W 17	-	-	-	-	-	-	-	-
W 18	++	+	+	+	-	-	-	-
W 19	+	++	-	-	-	-	-	-
W 20	++	++	-	-	-	-	-	-
W 21	-	-	-	-	-	-	-	-
W 22	+++	+++	+	-	-	-	-	-
W 23	++	+	-	-	-	-	-	-
W 24	++	+++	++	++	+++	++	-	-
W 25	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 7 c.

Agglutinationstest der Seren W 1 - W 25 gegen E.coli 078 von W 16

Seren Nr.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	K
W 1	-	-	-	-	-	-	-	-
W 2	+	<u>±</u>	-	-	-	-	-	-
W 3	-	-	-	-	-	-	-	-
W 4	-	-	-	-	-	-	-	-
W 5	-	-	-	-	-	-	-	-
W 6	-	+	-	-	-	-	-	-
W 7	-	-	-	-	-	-	-	-
W 8	-	-	-	-	-	-	-	-
W 9	++	+++	<u>±</u>	+	-	-	-	-
W 10	+	++	<u>±</u>	<u>±</u>	-	-	-	-
W 11	+	+	<u>±</u>	+	-	-	-	-
W 12	+	++	<u>±</u>	+	<u>±</u>	<u>±</u>	<u>±</u>	-
W 13	+	+	-	-	-	-	-	-
W 14	<u>±</u>	+	-	<u>±</u>	-	-	-	-
W 15	-	<u>±</u>	<u>±</u>	-	-	-	-	-
W 16	-	-	-	-	-	-	-	-
W 17	<u>±</u>	++	-	-	-	-	-	-
W 18	-	+	-	-	-	-	-	-
W 19	-	+	<u>±</u>	+	-	-	-	-
W 20	-	+	-	-	-	-	-	-
W 21	-	<u>±</u>	<u>±</u>	<u>±</u>	-	-	-	-
W 22	<u>±</u>	+	-	<u>±</u>	-	-	-	-
W 23	-	<u>±</u>	<u>±</u>	+	-	-	-	-
W 24	-	+	<u>±</u>	+	<u>±</u>	<u>±</u>	-	-
W 25	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 7 d.

Agglutinationstest der Seren W 1 - W 25 gegen Staph. aureus von W 22

Seren Nr.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	K
W 1	-	-	-	-	-	-	-	-
W 2	-	-	-	-	-	-	-	-
W 3	-	-	-	-	-	-	-	-
W 4	-	-	-	-	-	-	-	-
W 5	-	-	-	+	+	±	-	-
W 6	-	++	+	++	±	-	-	-
W 7	-	+	+	++	+	+	-	-
W 8	+	+	+	±	±	-	-	-
W 9	-	+	+	+	-	-	-	-
W 10	-	+	±	-	-	-	-	-
W 11	-	+	+	++	+	+	-	-
W 12	-	±	-	+	-	-	-	-
W 13	-	-	-	±	±	+	-	-
W 14	-	±	+	+	-	+	-	-
W 15	-	±	+	++	+	±	-	-
W 16	-	±	-	+	+	+	-	-
W 17	-	+	±	+	-	±	-	-
W 18	-	-	-	+	±	-	-	-
W 19	-	-	+	+	+	+	-	-
W 20	-	+	+	±	-	-	-	-
W 21	-	-	-	+	±	-	-	-
W 22	-	+	+	++	+	+	-	-
W 23	-	-	-	+	±	-	-	-
W 24	-	±	+	+	-	-	-	-
W 25	-	±	+	±	-	-	-	-

Tab. 7 e.

Agglutinationstest der Seren W 1 - W 25 gegen *Pseudomonas aeruginosa* von W 24

Seren Nr.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	K
W 1	++	+++	++	+++	++	+	-	-
W 2	++	+++	++	+++	+	<u>±</u>	-	-
W 3	+++	+++	+++	+++	+	++	-	-
W 4	++	+++	+	++	++	++	-	-
W 5	+++	+++	+++	+++	++	+++	-	-
W 6	++	+++	+++	+++	++	+	-	-
W 7	+++	+++	+++	+++	++	++	-	-
W 8	+++	+++	++	+++	+	+	-	-
W 9	++	+++	++	++	<u>±</u>	<u>±</u>	-	-
W 10	++	+++	+++	+++	<u>±</u>	-	-	-
W 11	++	++	+++	+++	++	++	+++	-
W 12	+++	+++	+++	+++	+	<u>±</u>	-	-
W 13	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-
W 14	++	+++	+++	++	++	++	-	-
W 15	++	+++	++	++	++	<u>±</u>	-	-
W 16	+++	++	+++	+++	++	<u>±</u>	-	-
W 17	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-
W 18	+++	+++	++	+++	+	+	-	-
W 19	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-
W 20	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-
W 21	++	+++	++	++	+	-	-	-
W 22	+++	+++	++	++	+	+	-	-
W 23	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-
W 24	+++	+++	++	+++	++	++	-	-
W 25	+++	+++	++	++	+	<u>±</u>	-	-

Wie aus den Tabellen 7 a , 7 b , 7 c , 7 d und 7 e hervorgeht, zeigen die Serumproben von W 1 - W 25 gegen 5 isolierte Keime nur schwache Agglutinationstiter, bis 1 : 4 gegen E.coli W 1 bei 15 Tieren, bis 1 : 32 gegen E.coli W 2 bei 18 Tieren , bis 1 : 64 gegen E.coli 078 W 16 bei 17 Tieren, bis 1 : 64 gegen Staphylococcus aureus-W 22 bei 21 Tieren und bis 1 : 128 gegen Pseudomonas aeruginosa W 24 bei 25 Tieren . In keinem Falle zeigte das Tier, aus dessen Milchprobe der jeweilige Keim isoliert wurde , einen signifikant höheren Antikörpertiter im Serum gegenüber dem Keim als die übrigen Tiere.

Dieser Befund spricht dafür, daß die Blutserumtiter sich unabhängig vom Geschehen im Euter entwickeln.

4.3. Ergebnisse des Agglutinationstests der beiden Gammaglobulinpräparationen

Die Agglutinationstests wurden gegen die gleichen Erreger wie in den Tabellen 7 a - 7 e durchgeführt.

Die jeweiligen Präparationen, Ammonsulfatpräparation (AS 1) und Rivanolpräparation (RV 1), wurden hergestellt aus dem Blutserum von den an Mastitis erkrankten Kühen W 1 - W 25 (siehe Tabelle 6). Bei den 25 Proben handelt es sich um einen repräsentativen Querschnitt aus dem Praxisgebiet, da die Entnahme in 23 verschiedenen Betrieben erfolgte.

Tab. 8.

Agglutinationstest der Gammaglobulinpräparationen (AS 1 , RV 1)
gegen die 5 isolierten Keime

Ammonsulfatpräparation (AS 1) :

Verd.	E.coli W 1	E.coli W 2	E.coli W 16	Sta. aureus W 22	Ps. aeruginosa W 24
1 : 2	-	+++	+++	±	+++
1 : 4	-	+++	+++	+	+
1 : 8	-	++	++	-	±
1 : 16	-	±	±	-	-
1 : 32	-	-	-	-	-
1 : 64	-	-	-	-	-
1 : 128	-	-	-	-	-
1 : 256	-	-	-	-	-

Rivanolpräparation (RV 1) :

Verd.	E.coli W 1	E.coli W 2	E.coli W 16	Sta. aureus W 22	Ps. aeruginosa W 24
1 : 2	+	+++	+++	++	++
1 : 4	++	+++	+++	+++	++
1 : 8	-	+++	++	±	-
1 : 16	-	+++	++	-	-
1 : 32	-	+	+	-	-
1 : 64	-	-	+	-	-
1 : 128	-	-	±	-	-
1 : 256	-	-	±	-	-
NaCl -	-	-	-	-	-
Kontr.					

Aus der Tabelle 6 ist ersichtlich, daß sich die agglutinierenden Eigenschaften der Präparationen mit zumeist nur geringem Titer auf alle untersuchten Keime erstrecken. Gegen E.coli W 1 hat die Ammonsulfatpräparation keinen Agglutinationstiter. Die Präparation RV 1 ist der Präparation AS 1 überlegen.

4.4. Ergebnisse der Immunelektrophorese der beiden Präparationen

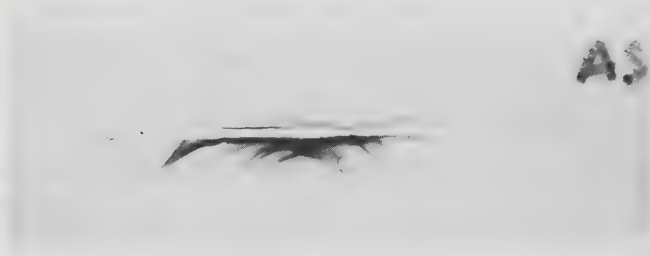


Abb. 1 : Immunelektropherogramm der Gammaglobulinpräparation AS 1 , erhalten durch Ammonsulfatfällung. Als Antiserum diente ein Anti-Rinderserum vom Kaninchen. Oben wurde die Präparation, unten zur Kontrolle ein unbehandeltes Rinderserum eingefüllt.



Abb. 2 : Immunelektropherogramm der Gammaglobulinpräparation RV 1 , erhalten durch Rivanolfällung. Beschichtung wie in Abb.1

Aus Abb. 1 und Abb. 2 ist ersichtlich, daß vor allem IgG in beiden Präparationen dominiert.

4.5. Bakterizidietest der Gammaglobulinpräparationen AS 1 und RV 1 gegenüber den wichtigsten Erregern

Tab. 9.

Test- keim	Präparation	Verdünnung der Präparation				K 1	K 2	SK
		0	1 : 10	1 : 100	1 : 1000			
E.coli W 1	Pool Ammonsulf.	370	ca.5000	>5000	>5000	228	>5000	0
	Pool Rivanol	474	ca.5000	>5000	>5000	214	>5000	0
E.coli W 2	P. Ammonsulfat	642	ca.5000	>5000	>5000	186	>5000	0
	P. Rivanol	316	2448	>5000	>5000	256	>5000	0
E.coli W 16	P. Ammonsulfat	152	468	528	708	143	3832	0
	P. Rivanol	350	636	468	540	157	ca.4000	0
St. aureus W 22	P. Ammonsulfat	386	150	1544	3160	220	3752	0
	P. Rivanol	510	440	1248	1376	186	ca.4000	0
Ps. aerug. W 24	P. Ammonsulfat	500	432	1072	608	139	508	0
	P. Rivanol	336	600	824	552	165	568	0

Aus der Tabelle 9 ist ersichtlich, daß beide Präparationen gegenüber zwei E.coli Stämmen nur unverdünnt bakteriostatisch wirkten, gegenüber einem E.coli Stamm dagegen auch in höheren Verdünnungen. Beide Präparationen zeigten einen bakteriostatischen Effekt gegenüber Staph. aureus W 22 deutlich bis zu einer Verdünnung von mindestens 1 : 10, gegenüber Pseudomonas aeruginosa W 24 war dagegen kein bakteriostatischer Effekt feststellbar. Eine bakterizide Wirkung wurde nirgends beobachtet.

4.6. Therapie durch Applikation des Serumpools I.

Mit dem Serumpool I, hergestellt aus dem Serum der an Mastitis erkrankten Kühe W 1 - W 25 wurden die Kühe W 34 - W 48 behandelt.

Bei der Behandlung mit den Präparationen traten zwei große Schwierigkeiten auf :

- a , Bei akuten Mastitisfällen mit einer starken Störung des Allgemeinbefindens war das Risiko einer Versuchsbehandlung zu groß.
- b , Die Therapie von W 34 - W 36 die jeweils an zwei aufeinanderfolgenden Tagen mit 10,0 ml (AS 1 oder RV 1) Präparation durchgeführt wurde, brachte gleich zu Anfang folgendes Problem : Die Tierhalter die nach einmaliger Applikation des " Neuen Mittels " optisch keine Besserung festgestellt hatten, reagierten auf den Vorschlag einer erneuten Serumapplikation sehr skeptisch bis ungehalten. Auf Grund dieser Tatsache habe ich die einmalige Verabreichung der Präparation gewählt und dabei die Menge von 10,0 auf 20,0 ml heraufgesetzt.

Die Tabelle 10 führt die an Mastitis erkrankten Kühe (W 34 - W 48) auf, die mit dem Serumpool I behandelt wurden.

Von den akuten Fällen W 37 , W 38 , W 41 , W 43 , W 47 , W 48 wurden nur W 38 , W 47 und W 48 mit der Präparation behandelt, da die Tierhalter der übrigen Tiere lediglich einer Blutentnahme zur Serumgewinnung und einer Milchentnahme zum Erregernachweis zustimmten, ansonsten aber die konservative Behandlungsmethode verlangten.

Von den mit der jeweiligen Präparation behandelten Tieren litten nun, wie aus Tabelle 10 hervorgeht, 3 Tiere an akuter Mastitis, 7 Tiere an subakuter Mastitis und 2 Tiere an chronischer Mastitis. Die Milch der jeweils erkrankten Viertel war in jedem Fall optisch verändert.

Tab. 10.

Übersicht über die an Mastitis erkrankten Tiere, die mit den
Gammaglobulinpräparationen AS 1 oder RV 1 behandelt wurden

Nr.	Besitzer	Rasse	Geb.-	erkranktes Viertel	Allgemeinbefinden	Bakteriolog.
Dat.	Ort		datum	Art der Mastitis	Milchbeschaffenh.	Befund
W 34 5.2. 75	Kötzner Hoh.	Schwarz punt	1970	vorne links subakute Mastitis	ungestört Milch:flockig, sahnig	ohne Befund
W 35 8.2.	Faust- mann,Gr.	Gelbv.	1968	vorne rechts subakute Mastitis	ungestört Milch:dickflüssig, flockig	ohne Befund
W 36 11.2.	Ganz J. Th.	Höhen- fleckv.	1968	hinten links subakute Mastitis	ungestört Milch:kl.weiße Flocken	koagulaseneg Micrococc.+
W 38 24.3.	Gernert Hoh.	Schwarz punt	1970	vorne links akute Mastitis	Fieber(40,5 ⁰), wenig vermind.Fut- teraufn.,Milch:kl. weiße Flocken	koagulaseneg Micrococc.+
W 39 26.3.	Beck Th.	Gelbv.	1972	hinten links subakute Mastitis	ungestört Milch:kl.weiße Flocken	α-haem. Strept.+++
W 40 1.4.	Meyer We.	Gelbv.	1968	hinten links subakute Mastitis	ungestört Milch:grieselig	ohne Befund
W 42 3.4.	Faust- mann,Gr.	Gelbv.	1971	hinten links subakute Mastitis	ungestört Milch:kl. weiße Flocken	koagulaseneg Micrococc.+

Nr.	Besitzer	Rasse	Geb.-	erkranktes Viertel	Allgemeinbefinden	Bakteriolog.
Dat.	Ort		datum	Art der Mastitis	Milchbeschaffenh.	Befund
W 44 21.4.	Brandm. Bie.	Gelbv.	1970	vorne links chron. Mastitis	ungestört Milch: wässrig, flockiges Sekret	koagulaseneg. Micrococc.+
W 45 25.4.	Beuschl Ka.	Gelbv.	1970	hinten links chron. Mastitis	ungestört Milch: kl. weiße Flocken	E.coli +, Serratia marcescens +
W 46 26.4.	Hirsch Kt.	Gelbv.	1966	vorne links subakute Mastitis	ungestört Milch: weiße Schlieren	E.coli +, aerobe Spo- renbildner +
W 47 28.4.	Gernert Bie.	Gelbv.	1970	hinten links akute Mastitis	Fieber(40,5°), stark vermind. Futterraufn. Milch: hellbr. Flocken	E.coli 087
W 48 5.5.	Wirsch. Bie.	Gelbv.	1971	vorne links akute Mastitis	Fieber(41,5°), stark vermind. Futterraufn. Milch: braunes, wässriges Sekret	Strept. uberis ++

4.7. Auswertung des Therapieerfolges (Serumpool I)

Wie aus der Tabelle 11 ersichtlich, wurden im ersten Versuch 12 Kühe mit dem Serumpool I (AS 1 und RV 1) behandelt. Bei 9 Kühen wurde eine Behandlung mit der AS 1 Präparation und bei 3 Kühen mit der RV 1 Präparation vorgenommen.

Aus der Tabelle geht weiter hervor, daß von 12 Kühen, die mit dem Serumpool behandelt wurden, bei 5 Tieren ein positiver Therapieerfolg eingetreten ist, d.h. keine weitere Behandlung mehr notwendig war. Bei den restlichen 7 Versuchstieren mußte die Behandlung, da optisch keine Besserung eingetreten war, konservativ, also mit Antibiotica, weitergeführt werden.

Von 3 an akuter Mastitis erkrankten Kühen war bei 2 Tieren (W 47 und W 48) die Therapie erfolgreich, während ein Patient (W 38) mit Antibiotica weiterbehandelt werden mußte. Bei W 47 war E.coli 087 ++ und bei W 48 Streptococcus uberis ++ der Erreger. Bei W 38 waren die Erreger koagulasenegative Micrococcaceae + . Diese Mastitis mußte antibiotisch weiterbehandelt werden.

Ebenso negativ war der Therapieerfolg bei der chronischen Mastitis von W 45. Auch hier war eine Weiterbehandlung mit Antibiotica notwendig. Hier sind zwar die in der ersten Milchprobe festgestellten Erreger (Serratia marcescens und E.coli) nicht mehr nachweisbar, in der zweiten Probe wurden koagulasenegative Micrococcaceae nachgewiesen. In der Praxis war der Therapieerfolg aber negativ, da optisch keine Besserung der Milch nach der Behandlung eingetreten ist.

Bei W 44 , einer ebenfalls chronischen Mastitis (koagulasenegative Micrococcaceae) war der Therapieerfolg negativ.

Von den subakuten Mastitiden : W 34 (ohne Befund) , W 35 (ohne Befund) , W 36 (koagulasenegative Micrococcaceae +) , W 39 (α - haem. Streptococci +++) , W 40 (ohne Befund) , W 42 (koagulasenegative Micrococcaceae +) und W 46 (E.coli , aerobe Sporenbildner +) war nur bei W 39 , W 42 und W 46 keine weitere Behandlung mehr notwendig.

Tab. 11.

Therapieergebnisse der in Tabelle 10 aufgeführten Tiere
die mit AS 1 oder RV 1 behandelt wurden.

Nr.:	Behandlung		Erregerart	Therapieerfolg
			a) vor d. Behandlung b) nach d. Behandlung	
W 34	5.2.75	10 ml AS	a) ohne Befund	negativ Weiterbehandlung mit Antibiotica
	6.2.	10 ml AS	b) ohne Befund	
W 35	8.2.75	10 ml AS	a) ohne Befund	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica
	9.2.	10 ml AS	b) ohne Befund	
W 36	11.2.	20 ml AS	a) koagulasenegative Micrococcaceae +	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica
			b) " " "	
W 38	24.3.	20 ml AS	a) koagulaseneg. Micrococcaceae +	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica
			b) " " "	
W 39	26.3.	20 ml AS	a) α -haem. Strept.+++	positiv keine Weiterbeh. nötig
			b) α -haem. Strept.	
W 40	1.4.	20 ml AS	a) ohne Befund	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica
			b) ohne Befund	
W 42	3.4.	20 ml AS	a) koagulaseneg. Micrococcaceae +	positiv keine Weiterbeh. nötig
			b) ohne Befund	
W 44	21.4.	20 ml RV	a) koagulaseneg. Micrococcaceae +	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica
			b) " " "	

Nr.:	Behandlung	Erregerart a) vor d. Behandlung b) nach d. Behandlung	Therapieerfolg
W 45	25.4.75 20 ml RV	a) E.coli + , Serratia marcescens + b) koagulanseneg. Micrococcaceae +	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica
W 46	20.4. 20 ml AS	a) E.coli + , aerobe Sporenbildner + b) aerobe Sporenbild.+	positiv keine Weiterbeh. nötig
W 47	25.4. 20 ml AS	a) E.coli 087 ++ b) Proteus vulgaris ++, E.coli +	positiv keine Weiterbeh. nötig
W 48	8.5. 20 ml RV	a) Strept. uberis ++ b) ohne Befund	positiv keine Weiterbeh. nötig

5. Ergebnisse der 2. Versuchsreihe (Serumpool II)

5.1. Tiermaterial zur Serumgewinnung und Erregerfeststellung

Aus der folgenden Tabelle 12 (W 26 - W 43) geht hervor, daß 12 Tiere, von denen Blut zur Serumgewinnung entnommen wurde, an einer akuten Mastitis erkrankt waren : W 26 , W 27 , W 28 , W 29 , W 30 , W 31 , W 32 , W 33 , W 37 , W 38 , W 41 und W 43 . An einer subakuten Mastitis waren 6 Tiere erkrankt : W 34 , W 35 , W 36 , W 39 , W 40 und W 42 . Bei den erkrankten Tieren handelt es sich um 13 Tiere der Rasse Gelbvieh (Franken) , 3 Schwarzbunte , ein Fleckvieh und eine Jersey-Kuh.

Tab. 12.

Übersicht über die mastitiskranken Kühe, die zur Blutprobenentnahme für die Herstellung des Serumpools II herangezogen wurden (W 26 - W 43)

Nr. Dat.	Besitzer Ort	Rasse	Geb.- datum	erkranktes Viertel Art der Mastitis	Allgemeinbefinden Milchbeschaffenh.	Bakteriolog. Befund
W 26 2.12. 74	Hager Ka.	Gelbv.	1972	hinten rechts akute Mastitis	Fieber(40,5 ⁰), kaum Futterraufn. Milch: bräunl. wässr. Sekret mit vereinzelt Flocken	E.coli +
W 27 4.12.	Kätzner Hoh.	Gelbv.	1971	hinten rechts akute Mastitis	Fieber(40,0 ⁰), ver- mind. Futterraufn. Milch: kl. Flocken	E.coli ++
W 28 9.12.	Gimper- lein Re.	Gelbv.	1971	hinten rechts akute Mastitis	Fieber(40,1 ⁰), stark vermind. Fut- terraufn., Milch: gelbl. wässr. Sekret	E.coli +++
W 29 6.1.	Hartwig Großl.	Gelbv.	1971	hinten links akute Mastitis	Fieber(40,5 ⁰), keine Futterraufn., Milch: bräunl. wässr. Sekret	E.coli +++
W 30 11.1.	Hartwig Großl.	Gelbv.	1968	hinten links akute Mastitis	Fieber(39,8 ⁰), ver- mind. Futterraufn. Milch: hellbraun wässr. Sekret	E.coli +++

Nr.. Dat.	Besitzer Ort	Rasse	Geb.- datum	erkranktes Viertel Art der Mastitis	Allgemeinbefinden Milchbeschaffenh.	Bakteriolog. Befund
W 31 16.1.	Müller We.	Gelbv.	1967	hinten rechts akute Mastitis	Fieber (39,6°). etw.vermind.Futter aufn.Milch:weiße Flocken	α -haem Strept. +
W 32 20.1.	Schorr Großl.	Gelbv.	1971	hinten rechts akute Mastitis	Fieber (40,3°) keine Futteraufn. Milch:gelbe Zotteln	E.coli ++
W 33 23.1.	Dappert Re.	Gelbv.	1971	hinten rechts akute Mastitis	Fieber(41,2°)keine Futteraufn.Milch: kl. weiße Zotteln	E.coli ++
W 34 5.2.	Kötzner Hoh.	Schwarz bunt	1970	vorne links subakute Mastitis	ungestört Milch:flockig	ohne Befund
W 35 8.2.	Faust- mann Gr.	Fran- ken	1968	vorne rechts subakute Mastitis	ungestört,Milch: dickflüssig,flock.	ohne Befund
W 36 11.2.	Ganz J. Th.	Fleck- vieh	1971	hinten links subakute Mastitis	ungestört,Milch: kl.weiße Flocken	koagulaseneg Micrococc.+
W 37 1.3.	Brand- mann Bi.	Schwarz bunt	1967	hinten links akute Mastitis	Fieber(41,5°)kaum Futteraufn.,Milch: kl.weiße Flocken	koagulaseneg Micrococc.+
W 38 24.3.	Gernert Hoh.	Schwarz bunt	1970	vorne rechts akute Mastitis	Fieber(40,5°),etw. vermind.Futteraufn. Milch:kl.weiße Zotteln	koagulaseneg Micrococc.+
W 39 26.3.	Beck Th.	Fran- ken	1972	hinten links subakute Mastitis	ungestört Milch:kl.weiße Zotteln	α -haem. Strept.+++

Nr. Dat.	Besitzer Ort	Rasse	Geb.- datum	erkranktes Viertel Art der Mastitis	Allgemeinbefinden Milchbeschaffenh.	Bakteriolog. Befund
W 40 1.4.	Meyer F. We.	Fran- ken	1968	hinten links subakute Mastitis	ungestört Milch:grieselig	ohne Befund
W 41 2.4.	Meyer E. Ka.	Jersey kuh	1972	vorne links akute Mastitis	Fieber (40,5°) keine Futteraufn. Milch:kl.weiße Flocken	E.coli +++
W 42 3.4.	Faust- mann Gr.	Gelbv.	1971	hinten links subakute Mastitis	ungestört Milch:flockig	koagulaseneg Micrococc.+
W 43 15.4.	Schmitt Großl.	Fran- ken	1972	hinten rechts akute Mastitis	Fieber (41,0°) Milch: wässrig	ohne Befund

5.2. Ergebnisse der Agglutinationstests der Seren W 26 - W 43

Der Agglutinationstest der Seren W 26 - W 43 wurde gegen folgende Erreger durchgeführt : E.coli von W 1 , E.coli von W 2 , E.coli 078 von W 16 , alpha-haemolyt. Streptococcen (kein Galt) von W 19 , Staphylococcus aureus von W 22 , Pseudomonas aeruginosa von W 24 und E.coli 086 von W 47 a .

Die Seren W 28 , W 38 , W 39 und W 42 konnten nicht getestet werden, da die Gläser in denen sie aufbewahrt wurden auf dem Transport zu Bruch gingen.

Zum Agglutinationstest der Seren W 26 - W 43 wurden also die gleichen Bakterienstämme verwendet wie beim Agglutinationstest der Seren W 1 - W 25 . Es sind jetzt lediglich 2 weitere Stämme hinzugekommen: alpha-haemolytische Streptococcen (kein Galt) von W 19 und E.coli 086 von W 47 a .

Tab. 13 a.

Agglutinationstest der Seren W 26 - W 43 gegen E.coli von W 1

Seren Nr.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	SK
W 26	+++	++	±	±	±	-	-	-
W 27	±	+	++	-	-	-	-	-
W 29	+++	+++	+	-	-	-	-	-
W 30	±	++	++	±	-	-	-	-
W 31	+++	+++	+	-	-	-	-	-
W 32	++	+++	+++	+++	±	-	-	-
W 33	+	++	+	++	±	-	-	-
W 34	±	++	++	++	-	-	-	-
W 35	+	++	+	+	-	-	-	-
W 36	++	+	-	-	-	-	-	-
W 37	++	++	+	+	-	-	-	-
W 40	±	+	++	++	-	-	-	-
W 41	+++	+++	++	++	-	-	-	-
W 43	+	++	++	+	-	-	-	-

AK : -

Tab. 13 b.

Agglutinationstest der Seren W 26 - W 43 gegen E.coli von W 2

Seren Nr.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	SK
W 26	±	-	-	-	-	-	-	-
W 27	++	-	-	-	-	-	-	-
W 29	-	-	-	-	-	-	-	-
W 30	++	-	-	-	-	-	-	-
W 31	++	+	-	-	-	-	-	-
W 32	+	-	-	-	-	-	-	-
W 33	+	++	+	+	+	+	-	-
W 34	-	-	±	-	-	-	-	-
W 35	-	-	-	-	-	-	-	-
W 36	±	-	-	-	-	-	-	-
W 37	-	±	-	-	-	-	-	-
W 40	+	++	+	+	-	-	-	-
W 41	+++	+++	++	++	-	-	-	-
W 43	+	++	-	±	-	-	-	-

Tab. 13 c.

Agglutinationstest der Seren W 26 - W 43 gegen E.coli von W 16

Seren Nr.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	SK
W 26	<u>±</u>	-	-	-	-	-	-	-
W 27	<u>±</u>	-	-	-	-	-	-	-
W 29	-	-	-	-	-	-	-	-
W 30	+	<u>±</u>	-	-	-	-	-	-
W 31	<u>±</u>	-	-	-	-	-	-	-
W 32	-	-	-	-	-	-	-	-
W 33	+	+	<u>±</u>	<u>±</u>	+	<u>±</u>	<u>±</u>	-
W 34	<u>±</u>	+	+	-	-	-	-	-
W 35	<u>±</u>	-	-	-	-	-	-	-
W 36	-	-	-	-	-	-	-	-
W 37	-	<u>±</u>	-	-	-	-	-	-
W 40	+	++	<u>±</u>	-	-	-	-	-
W 41	<u>±</u>	+	<u>±</u>	-	-	-	-	-
W 43	++	++	<u>±</u>	-	-	-	-	-

Tab. 13 d.

Agglutinationstest der Seren W 26 - W 43 gegen alpha - h m.

(kein Galt) von W 19

Seren Nr.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	Sk
W 26	-	-	-	-	-	-	-	-
W 27	-	-	-	-	-	-	-	-
W 29	-	-	-	-	-	-	-	-
W 30	-	-	-	-	-	-	-	-
W 31	-	-	-	-	-	-	-	-
W 32	-	-	-	-	-	-	-	-
W 33	-	-	-	-	-	-	-	-
W 34	-	-	-	-	-	-	-	-
W 35	-	-	-	-	-	-	-	-
W 36	-	-	-	-	-	-	-	-
W 37	+	+	±	-	-	-	-	-
W 40	-	-	-	-	-	-	-	-
W 41	-	±	-	-	-	-	-	-
W 43	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 13 e.

Agglutinationstest der Seren W 26 - W 43 gegen Staph. aureus von W 22

Seren Nr.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	SK
W 26	++	+++	++	±	+	+	+	-
W 27	-	±	-	-	-	-	-	-
W 29	-	-	-	-	-	-	-	-
W 30	-	±	±	+	+	+	-	-
W 31	-	-	±	+	-	-	-	-
W 32	+	++	++	+	±	-	-	-
W 33	+	++	++	+	+	+	±	-
W 34	-	-	±	±	-	-	-	-
W 35	-	±	+	±	-	-	-	-
W 36	±	+	+	+	-	-	-	-
W 37	+	+	+	+	±	-	-	-
W 40	+++	+++	+++	++	+	±	-	-
W 41	-	-	+	+	±	+	-	-
W 43	+	++	++	+	+	±	-	-

AK : -

Tab. 13 f.

Agglutinationstest der Seren von W 26 - W 43 gegen *Pseudomonas aeruginosa* von W 24

Seren Nr.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	SK
W 26	+++	+++	++	++	±	-	-	-
W 27	++	+++	++	+++	+	±	-	-
W 29	++	+++	+	±	-	-	-	-
W 30	+++	+++	+++	++	±	-	-	-
W 31	+++	+++	++	++	+	±	-	-
W 32	+++	+++	+++	++	+	+	-	-
W 33	+++	+++	++	++	+	+	-	-
W 34	++	+++	+++	++	++	±	-	-
W 35	++	+++	+++	±	+	-	-	-
W 36	++	+++	+	++	±	±	-	-
W 37	+++	+++	+++	+++	+++	±	-	-
W 40	+++	+++	+++	+++	+	+	-	-
W 41	++	+++	+++	+++	-	-	-	-
W 43	++	+++	+++	+	+	±	-	-

AK : -

Tab. 13 g.

Agglutinationstest der Seren von W 26 - W 43 gegen E.coli 086 von W 47 a

Seren Nr.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	SK
W 26	+++	+++	+++	-	-	-	-	-
W 27	-	-	-	-	-	-	-	-
W 29	+	±	-	-	-	-	-	-
W 30	++	+++	+++	++	-	-	-	-
W 31	-	-	-	-	-	-	-	-
W 32	+++	+++	+++	++	-	-	-	-
W 33	+++	+++	+++	++	++	++	-	-
W 34	+	+	++	-	-	-	-	-
W 35	+	++	±	±	±	±	±	-
W 36	++	±	-	-	-	-	-	-
W 37	++	++	±	+	±	-	-	-
W 40	++	+++	+++	++	±	-	-	-
W 41	++	++	+	-	-	-	-	-
W 43	+++	+++	+++	+++	++	++	-	-

AK : -

Aus den Tabellen 13 a , b , c , d , e , f , g ist ersichtlich, daß die Serumproben von W 26 - W 43 gegen 7 isolierte Keime nur schwache Agglutinationstiter zeigen : bis 1 : 32 gegen E.coli W 1 bei 14 Tieren , bis 1 : 64 gegen E.coli W 2 bei 9 Tieren , bis 1 : 64 gegen E.coli W 16 bei 6 Tieren , bis 1 : 8 gegen alpha-haem.Streptokokken (kein Galt) W 19 bei einem Tier , bis 1 : 128 gegen Staph. aureus W 22 bei 9 Tieren , bis 1 : 64 gegen Pseudomonas aeruginosa W 24 bei 14 Tieren und bis 1 : 64 gegen E.coli O86 W 47 a bei 12 Tieren. Auch hier zeigt sich wie in den Tabellen 7 a - 7 e , daß in keinem Falle das Tier , aus dessen Milchprobe der jeweilige Keim isoliert wurde , einen deutlich höheren Antikörpertiter im Serum gegenüber dem Keim aufweist , als die übrigen Tiere.

5.3. Ergebnisse der Agglutinationstests der beiden Gammaglobulinpräparationen

Die jeweiligen Präparationen , Ammonsulfatpräparation (AS 2) und Rivanolpräparation (RV 2) wurden aus den Blutseren der Kühe W 26 - W 43 (siehe Tabelle 12) hergestellt.

Die Agglutinationstests wurden gegen folgende Erreger durchgeführt: E.coli W 1 , E.coli W 2 , E.coli W 16 , alpha-haem.Streptokokken (kein Galt) W 19 , Staph. aureus W 22 , Pseudomonas aeruginosa W 24 und E.coli W 47 a . Das Ergebnis zeigt Tabelle 14 .

Aus Tabelle 14 ist ersichtlich , daß sich in beiden Gammaglobulinpräparationen (AS 2 und RV 2) die agglutinierenden Eigenschaften nur auf E.coli W 2 und E.coli W 16 erstrecken.Gegen die übrigen Erreger zeigen die beiden Präparationen keinen Agglutinationstiter.

5.4. Ergebnisse der Immunelektrophorese der beiden Präparationen AS 2 und RV 2

Bei der Immunelektrophorese der beiden Präparationen zeigt sich, daß die Rivanol-Präparation aus relativ reinem IgG besteht, die Ammonsulfat-Präparation dagegen zusätzlich noch andere Proteine enthält (Wahrscheinlich IgM , IgA , Transferrin) .

Das Immunelektropherogramm der beiden Präparationen zeigt Abb. 3



Abb. 3. Immunelektropherogramm der Gammaglobulinpräparationen AS 2 , erhalten durch Ammonsulfatfällung , und RV 2 , erhalten durch Rivanol-fällung.

5.5. Bakterizidietest der Gammaglobulinpräparationen AS 2 und RV 2 gegenüber einigen Erregern

Tab. 15 a.

Ammonsulfatpräparation AS 2 :

Erreger	Ammonsulfat				K 1	K 2
	0	1:10	1:100	1:1000		
E.coli W 1	452	636	1128	2640	238	3704
E.coli W 2	62	156	464	1136	158	3200
E.coli W 16	2816	3248	3600	3700	234	4424
alpha-haem. Strept. W 19	3200	3500	3500	3500	338	3200
Staph. aureus W 22	260	508	304	296	85	3672
Pseudom. aerug. W 24	816	984	680	584	120	408
E.coli W 47 a	3176	3700	3700	3700	168	4240
S K	0	0	0	0	0	0

Tab. 15 b.

Rivanolpräparation RV 2 :

Erreger	Rivanol				K 1	K 2
	0	1:10	1:100	1:1000		
E.coli W 1	1456	1224	2456	3304	270	3784
E.coli W 2	332	356	1280	1248	190	3500
E.coli W 16	3344	3600	3800	3800	264	3760
alpha-haem. Strept. W 19	2744	3000	3000	3000	486	3500
Staph. aureus W 22	136	356	208	380	58	3304
Pseudom.aerug. W 24	708	488	656	624	134	451
E.coli W 47 a	2296	3000	3000	3000	166	3704
S K	0	0	0	0	0	0

Aus den Tabellen 15 a. und 15 b. ist ersichtlich, daß beide Präparationen gegenüber zwei E.coli Stämmen nur unverdünnt bakteriostatisch wirkten, gegenüber einem E.coli Stamm dagegen auch in höheren Verdünnungen. Beide Präparationen zeigten einen bakteriostatischen Effekt gegenüber Staph. aureus W 22 deutlich bis zu einer Verdünnung von mindestens 1 : 10 , gegenüber Pseudomonas aeruginosa W 24 war dagegen kein bakteriostatischer Effekt feststellbar. Eine bakterizide Wirkung wurde nirgends beobachtet.

5.6. Therapie durch Applikation des Serumpools II

In der zweiten Behandlungsserie wurden weitere 14 an Mastitis erkrankte Kühe mit den Gammaglobulinpräparationen AS 2 und RV 2 behandelt (Tabelle 16 , W 49 - W 62) . Bei den Patienten W 53 bis einschließlich W 62 hat der Tiergesundheitsdienst Unterfranken die Milch auf Mastitiserreger vor und nach der Behandlung untersucht. Es handelte sich bei diesen Tieren allein um subklinische Mastitiden. In 4 Fällen zeigten sich in der bis dahin optisch unveränderten Milch nach der Behandlung beim ersten Melken nach etwa 12 Std. Schlieren und Flocken. Wahrscheinlich beruht dieses optische Erscheinungsbild auf einer Gewebereizung des Euters durch die Präparation. Beim zweiten Ausmelken nach etwa 8 Stunden waren in der Milch keine Schlieren und Flocken mehr enthalten.

Aus der Tabelle 16 ist ersichtlich, daß von den behandelten Kühen 6 Tiere an einer subakuten , 2 Tiere an einer akuten , 2 Tiere an einer chronischen und weitere 4 Tiere an einer subklinischen Mastitis litten.

4 Kühe wurden mit der Ammonsulfatpräparation AS 2 und 10 Kühe mit der Rivanolpräparation RV 2 behandelt.

Bei den von Tiergesundheitsdienst zur Behandlung empfohlenen subklinischen Mastitiden wählte ich die Dosierung von 10,0 ml pro erkranktes Euterviertel wenn mehrere Viertel betroffen waren , während die Dosierung von 20,0 ml pro Viertel bei den übrigen Mastitiden beibehalten wurde.

Übersicht über die an Mastitis erkrankten Tiere, die mit den
Gammaglobulinpräparationen AS 2 oder RV 2 behandelt wurden

(W 49 - W 62)

Nr.	Besitzer	Rasse	Geb.-	erkranktes Viertel	Allgemeinbefinden	Bakteriolog.
Dat.	Ort		datum	Art der Mastitis	Milchbeschaffenh.	Befund
W 49 6.7.	Hillen- brand G.	Gelbv.	1970	vorne links subakute Mastitis	ungestört Milch: gelbe Flocken	Staph. aureus +++
W 50 25.7.	Weikert Sul	Gelbv.	1966	hinten rechts subakute Mastitis	ungestört Milch: fein, grieselig	E.coli +++
W 51 2.8.	Stumpf Geo.	Gelbv.	1971	hinten links subakute Mastitis	ungestört Milch: weiße Flocken	Koagulasen- neg Micrococc.+
W 52 25.8.	Hillen- brand G.	Gelbv.	1973	hinten rechts subakute Mastitis	ungestört Milch: weiße Flock.	E.coli +
W 53 8.10.	Amend Obersp.	Gelbv.	1969	hinten rechts subklinische Mast.	ungestört Milch: unverändert	Staph.aureus Strept.
W 54 8.10.	Pretsch Untersp.	Gelbv.	1967	vorne rechts subklinische Mast.	ungestört Milch: unverändert	Strept.
W 55 8.10.	Nöth Untersp.	Gelbv.	1969	vorne rechts und vorne links subklinische Mast.	ungestört Milch: unverändert	Pseudomonas
W 56 21.10.	Rudloff Obersp.	Gelbv.	1973	vorne links chron. Mastitis	ungestört Milch: kl. Flocken	Coryn. pyogenes
W 57 22.10.	Hauck Rüg.	Gelbv.	1971	alle 4 Viertel subklinische Mast.	ungestört Milch: unverändert	Str.agalact. Staph., colif. Keime

Nr. Dat.	Besitzer ort	Rasse	Geb.- datum	erkranktes Viertel Art der Mastitis	Allgemeinbefinden Milchbeschaffenh.	Bakteriolog. Befund
W 58 29.10	Kuzenb. Gr.	Gelbv.	1971	vorne rechts chron. Mastitis	ungestört Milch: br. Sekret mit gelben Batzen	Strept. Cor. pyogenes
W 59 29.10	Ulschlü- ger, Wie	Gelbv.	1969	vorne rechts akute Mastitis	Fieber (40,3 ⁰), ver- mind. Futteraufn. Milch: bräunl. Sekr.	ohne Befund
W 60 29.10	Ulschlü- ger, Wie	Gelbv.	1970	alle 4 Viertel subklinische Mast	ungestört Milch: unverändert	Str. agalact. Staph. aureus
W 61 14.11	Ach A. Ding.	Höhen- fleckv.	1971	vorne rechts subakute Mastitis	ungestört Milch: weiße Flocken	E. coli ++
W 62 18.11	Beer Ding.	Gelbv.	1968	hinten rechts akute Mastitis	Fieber (41 ⁰), stark vermind. Futteraufn. Milch: gelbe Zotteln	Cor. pyoge- nes +

5.7. Auswertung des Therapieerfolges (Serumpool II)

Wie aus Tabelle 17 ersichtlich ist, war von 14 an Mastitis erkrankten Kühen bei 4 Tieren keine Weiterbehandlung mit Antibiotica mehr notwendig. Der positive Therapieerfolg wurde beobachtet bei den Kühen W 49 (Erreger : Staph. aureus) , W 50 (Erreger : Escheriachia coli) , W 52 (Erreger : E.coli) und W 55 (Erreger : Pseudomonas in zwei Eutervierteln) . Bei W 53 , W 57 , W 60 und W 61 war , da optisch keine Besserung eingetreten ist , eine Weiterbehandlung mit Antibiotica notwendig , obwohl eine Erregerverminderung bzw. Erregereliminierung stattgefunden hatte. Auffallend ist bei dieser zweiten Versuchsreihe , daß alle , von Mischinfektionen verursachten Mastitiden mit Antibiotica weiterbehandelt werden mußten.

Bei den Coli-Mastitiden war eine Therapie mit dem Serumpool immer erfolgreich. Dagegen zeigte sich bei Mastitiden, deren Erreger *Corynebacterium pyogenes* , *Str. agalactiae* , Streptokokken und koagulasenegative Micrococcaceae waren, immer ein negativer Therapieerfolg.

Tab. 17.

Therapieergebnisse der in Tabelle 16 aufgeführten Tiere die mit AS 2 oder RV 2 behandelt wurden (W 49 - W 62)

Nr.:	Behandlung	Erregerart	Therapieerfolg
		a) vor d. Behandlung b) nach d. Behandlung	
W 49	6.7.75 20 ml RV 2	a) Staph.aureus +++ b) Staph.aureus +	Milch optisch besser positiv keine Weiterbeh. nötig
W 50	25.7. 20 ml RV 2	a) E.coli +++ b) E.coli +	Milch optisch besser positiv keine Weiterbeh. nötig
W 51	2.8. 20 ml RV 2	a) koagulasenegative Micrococcaceae ± b) " " "	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica
W 52	25.8. 20 ml RV 2	a) E.coli ± b) ohne Befund	positiv keine Weiterbeh. nötig
W 53	8.10. 20 ml RV 2	a) Staph.aureus,Strept. b) Strept.	negativ Staph.aureus verschwunden Weiterbeh. mit Antibiotica
W 54	8.10. 20 ml RV 2	a) Strept. b) Strept., koagulase- neg. Micrococcaceae	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica
W 55	8.10. 2 x 10 ml AS 2	a) v.r. und v.l. Pseudomonas b) ohne Befund	positiv keine Weiterbeh. nötig
W 56	21.10. 20 ml AS 2	a) Coryn. pyogenes b) Coryn. pyogenes	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica

Nr.:	Behandlung	Erregerart	Therapieerfolg
		a) vor d. Behandlung b) nach d. Behandlung	
W 57	22.10. 4 x 10 ml AS 2 (4 kranke Euterviertel)	a) v.r.: -, h.r.: Galt Strept., h.l.: Staph., coliforme Keime, v.l.: - b) v.r.: -, h.r.: Galt Strept., h.l.: -, v.l. Galt. Strept.	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica
W 58	22.10. 20 ml AS 2	a) Strept., Cor. pyogen. b) Strept., Cor. pyogen.	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica
W 59	29.10. 20 ml RV 2	a) ohne Befund b) ohne Befund	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica
W 60	29.10. 4 x 10 ml RV 2 (4 kranke Euterviertel)	a) v.r.: Galt Strept. h.r.: Galt Strept. Staph., h.l.: Staph., v.l.: -. b) v.r.: -, h.r.: Staph., h.l.: Staph. v.l.: -.	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica
W 61	14.11. 20 ml RV 2	a) E.coli ++ b) E.coli vereinzelt	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica
W 62	18.11. 20 ml RV 2	a) Cor. pyogenes + b) Cor. pyogenes +	negativ Weiterbeh. mit Antibiotica

6. Diskussion der Ergebnisse

Die Mastitis ist heute die häufigste und wichtigste Erkrankung der Rinder. Durch Einbußen in der Leistung euterkranker Kühe - nach TOLLE (1971) eine durchschnittliche Minderleistung von 9,2 % gegenüber eutergesunden Tieren - sowie durch das Vorkommen von Antibioticarückständen in der Milch behandelter Kühe, ergeben sich ernste wirtschaftliche und hygienische Probleme. Die komplexe Natur der Erkrankung gestaltet ihre Bekämpfung außerordentlich schwierig. Allein mit der Antibioticabehandlung kann das Mastitisproblem in den Rinderbeständen nicht bewältigt werden, zumal eine zunehmende Resistenz der Erreger zu beobachten ist. Deshalb wurden in der Vergangenheit zahlreiche Versuche, zu neuen Behandlungsmethoden von Mastitiden zu gelangen, unternommen. Zum Beispiel wurden aktive Immunisierungen gegenüber den wichtigsten Mastitis-erregern bzw. deren Toxine auf parenteralem Weg mit dem unterschiedlichsten Erfolg vorgenommen. So kam SLANETZ et al. (1963) zu dem Ergebnis, daß bei vaccinierten Tieren eine erhöhte Resistenz gegenüber der Euterinfektion durch *Staphylococcus aureus* besteht, während DERBYSHIRE und EDWARDS (1963) bei den Tieren, die gegen den gleichen Erreger vacciniert wurden, keine Unterschiede zwischen vaccinierten Kühen und der Kontrollgruppe feststellten. Auch intramammäre Vaccinationsversuche mit Staphylokokken-Toxoid sind nach den Befunden von KERR et al. (1959) nicht praktikabel, da starke klinische Reaktionen des Euters beobachtet wurden.

Nach BUTES (1970) kann durch aktive Immunisierungen zwar die Zahl der akuten Erkrankungen gesenkt werden, während die Zahl der subklinischen Mastitiden konstant bleibt bzw. sogar ansteigt.

Gammaglobuline beherbergen die wichtigsten Antikörperklassen und besitzen darüberhinaus durch ihre opsonisierenden Eigenschaften eine große Bedeutung bei der Unterstützung der Phagozytose (BUSCHMANN 1968). Es ist deshalb zu verstehen, daß in den letzten Jahren erhebliche Anstrengungen in Richtung auf eine Gammaglobulintherapie der Mastitis unternommen wurden. Die ausführlichsten Untersuchungen

stammen von BOTES (1970) . Er stellte das Vorkommen von hohen Titern spezifischer Serumagglutinine bei Kühen mit chronischer Mastitis fest ; wurden aus diesen Seren Immunglobulinpräparationen gewonnen und mastitiskranken Kühen lokal appliziert , so ergab sich ein guter therapeutischer Effekt bei perakuten , akuten, chronischen und subklinischen Mastitiden , vor allem dann , wenn eine Antibioticatherapie versagte.

Bei den von mir in einem unterfränkischen Praxisgebiet durchgeführten Untersuchungen fiel zunächst im Gegensatz zu den Ergebnissen von BOTES (1970) auf , daß im Serum von an Mastitis erkrankten Kühen keine hohen Konzentrationen spezifischer Antikörper vorkamen. Selbst bei chronischen Mastitiden wurde kein höherer Antikörpertiter gefunden. Die Befunde unterstützen damit die Annahme einer " Barriere " zwischen Blutserum und Euter ähnlich wie sie auch für den Lysozymgehalt existiert (GÜTZE , MEYER und BUSCHMANN 1977) . Die aus den Seren hergestellten Gammaglobulinpräparationen wiesen nur geringe bzw. überhaupt keine Antikörpertiter bei dem in vitro Versuch gegenüber den häufigsten im Praxisgebiet isolierten Mastitiserregern auf. Es war deshalb anzunehmen , daß ein eventueller therapeutischer Effekt der Präparationen nur zum Teil auf spezifischen Wirkungen beruht. Meine Behandlungsergebnisse zeigen , daß von 26 mit den Gammaglobulinpräparationen behandelten Tieren bei 9 Rindern ein positiver Therapieerfolg eintrat. Sowohl in der ersten , als auch in der zweiten Versuchsreihe war eine Behandlung von Escherichia coli Mastitiden mit der Präparation immer erfolgreich. Schlecht reagierten auf die Therapie in erster Linie zahlreiche Mastitisfälle mit keinem oder unspezifischem Erregernachweis. Die in einem begrenzten Gebiet mit einer beschränkten Anzahl von Mastitiden erhobenen Befunde sind nicht in der Lage zu einem abschließendem Urteil über die Möglichkeiten einer reinen Gammaglobulintherapie der Mastitis zu gelangen. Ein Übertriebener Optimismus ist jedoch nicht am Platze. Darüberhinaus scheint aber eine Verabreichung von Gammaglobulinpräparationen in Verbindung mit anderen Therapieformen sinnvoll zu sein.

In einem sehr umfangreichen Großversuch in Südafrika hat BUTES (1970) nachgewiesen , daß bei antibioticaresistenten Mastitiden der Einsatz von Gammaglobulinen zusammen mit Penicillin - Dihydrostreptomycin erfolgreich ist und damit vorläufig als das Mittel der Wahl angesehen werden muß . Ebenso beobachtete FISCHER (1957) bei gleichzeitiger Gabe von Gammaglobulinen und Antibiotica einen synergistischen Effekt.

Bei meinen Versuchen ergab sich ein leichter Vorteil der aus mehreren Fraktionen bestehenden Ammonsulfatpräparationen (5 x positiv , 8 x negativ) , gegenüber den fast ausschließlich aus IgG bestehenden Rivanolpräparationen (4 x positiv , 9 x negativ). In diesem Zusammenhang ist ein Hinweis auf die Bedeutung der IgM-Antikörper bei der Abwehr von Bakterieninfektionen am Platze (WEIDANZ et al. 1964 , PIKE und SCHULZE 1964) . Die Suche nach weiteren Methoden zur Herstellung von Immunglobulinpräparaten für den Einsatz in der Mastitisbekämpfung erscheint deshalb angebracht.

7. Zusammenfassung

Zur Bekämpfung von Mastitiden beim Rind wurden Gammaglobulinpräparationen hergestellt. Diese Präparationen wurden aus den Seren von Kühen gewonnen, die an einer chronischen, akuten oder subakuten Mastitis erkrankt waren. In vitro Tests zeigten, daß die Gammaglobulinpräparationen nur geringe bzw. überhaupt keine Antikörpertiter gegenüber zahlreichen Mastitiserregern aufwiesen. Diese Befunde unterstützen damit die Annahme einer "Barriere" zwischen Blutserum und Euter.

Bei den mit den Präparationen behandelten Mastitisfällen trat bei etwas weniger als der Hälfte der Tiere ein positiver therapeutischer Effekt ein, wobei hervorgehoben werden muß, daß bei allen E.coli - Mastitiden ein positiver Heilerfolg beobachtet wurde. Die Ergebnisse sind nicht ausreichend, um zu einem abschließenden Urteil über die Möglichkeiten einer Gammaglobulintherapie der Mastitis zu gelangen. Ein übertriebener Optimismus ist jedoch nicht am Platze. Eine zusätzliche Verabreichung von Gammaglobulinpräparaten in Verbindung mit anderen Therapieformen scheint sinnvoll zu sein.

7. Summary

Gamma globulin preparations have been developed in order to produce a resistance to mastitis. These were extracted from the serum of cows, which had been taken ill with a chronic, acute or subacute mastitis.

In vitro tests revealed, that for many mastitic pathogens the gamma globulin preparations showed very little or no antibody titres. This finding supports the assumption of a " barrier " between bloodserum and udder.

In those cases of mastitis treated with the preparation a positive therapeutic effect appeared in a little less than half of the animals. However it should be pointed out that in all cases of E.coli - mastitis this positive effect was observed. The results are not sufficient to come to a conclusive decision about the possibilities of treating mastitis with gamma globulin therapy. However although there are no grounds for too much optimism. Additional administration of gamma globulin preparations in connection with different types of therapy would appear to be reasonable.

8. Literaturverzeichnis

1. Barandun, S., Kistler, P.,
Jennet, F., Isliker, H.,
1962
Intravenous Administration of Human
Gamma-Globulin.
Vox Sang. 7, 157
2. Barandun, S., 1964
Die Gammaglobulin-Therapie.
Bibl. haemat. Fasc. 17.
3. Blobel, H., and
Berman, D. T., 1962
Vaccination of dairy cattle against
staphylococcic mastitis.
Am. J. vet. Res. 23, 7 - 14
4. BMELF - Informationen,
1976
Deutsche Kühe geben mehr Milch.
Dt. Tierärztebl. 8, 380
5. Botes, H. J. W., 1970
Local Immunotherapy of Mastitis.
J. South African Vet. Med. Assoc.
suppl. 1.
6. Brown, R. W., 1960
Staphylococcic antitoxins in dairy
cattle. I. review of the literature.
Am. J. vet. Res. 21, 1006 - 1014
7. Bürki, F., 1962
Studien über bovine Enteroviren.
4. Mitteilung: Kreuzneutralisation
zwischen 4 eigenen und 9 ausländischen
Virusstämmen.
Mh. Tierhekd. 14, 321
8. Bürki, F., und Fey, H.,
1963
Zur Pathogenese der Kälber-Colisepsis.
VII. Virologische Untersuchungen.
Zbl. Bakt. I. Orig. 187, 517
9. Clivers, D. O.
zit. nach Bürki, F., und Fey, H. (8)
10. Derbyshire, J. B., 1960
Experimental studies on the occurrence
of staphylococcal antitoxin in the
whey of cows.
Res. vet. Sci. 1, 350 - 354
11. Derbyshire, J. B., and
Edwards, S. J., 1963
A field trial of a staphylococcal cell-
-toxoid vaccine in the control of
staphylococcal mastitis in cows.
Vet. Rec. 75, 1208 - 1210

12. Derbyshire, J.B., and Smith, G.S., 1969 Immunization against experimental staphylococcal mastitis in the goat by the intramammary infusion of cell -
- toxoid vaccine.
Res. vet. Sci. 10, 559 - 564
13. Edwards, S.J., 1964 The Diffusion and Retention of Penicillin after Injection into the Bovine Udder.
Vet. Rec. 76, 545
14. Fey, H., Nicolet, J., v. Fellenberg, R., und Margendant, A., 1964 Immunologische, serologische und immunochemische Methoden zum Nachweis der Agammaglobulinämie des Kalbes.
Zbl. Vet. Med. B., 11, 584
15. Fisher, M.W., 1957 Synergism Between Human Gamma Globulin and Chloramphenicol in the Treatment of Experimental Bacterial Infections.
Antibiot. Chemotherapie 7, 315
16. Fisher, M.W., und Manning, M.C., 1961 The Influence of Certain Experimental Variables on the Antibacterial Activity of Human Gamma Globulin in Mice.
J. Path. Bact. 82, 293
17. Fisher, M.W., und Sako, L., zit. nach Barandun und Mitarbeiter (1)
18. Gaudlitz, K., und Czernicki, B., 1971 Mastitisprobleme und Eutergesundheitsdienst.
Prakt. Tierarzt, 25, 265 - 266
19. Gedek, W., 1972 Die Staphylococcenmastitis bei Haustieren.
VEB Fischer Jena 1972, 113, 114, 161 - 169
20. Gedek, W., 1973 Ausscheidung von Antibiotica mit der Milch.
Tierärztl. Prax. 1, 245 - 251
21. Gedek, W., 1974 Ausscheidung von Sulfonamiden mit der Milch.
Tierärztl. Prax. 2, 29 - 36
22. Gloor, H.F., 1966 Probleme der Rindermastitis.
Schweiz. Arch. Tierheilk., 108, 1 - 13

23. Götze, P., Meyer, J.,
und Buschmann, H., 1977
Untersuchungen über den Lysozymgehalt
im Blut und in der Milch von gesunden
und euterkranken Rindern.
Zbl. Vet. Med. B. (Im Druck)
24. Guallini, L., und
Bertoni, L., 1964
Verhalten der Staphylokokken-Antitoxine
bei Rindern mit Staphylokokkenmastitis.
Atti. Soc. ital. Sci. vet. 17, 762 - 764
25. Hässig, A., 1964
Immunglobuline und Infektabwehr
Zur Prophylaxe und Therapie mit mensch-
lichen Gammaglobulinpräparaten.
Wien. Med. Wschr. 46, 803 - 808
26. Heidrich, H.J., und
Renk, W., 1963
Krankheiten der Milchdrüse bei Haus-
tieren.
Verlag Parey, Berlin - Hamburg
27. Jacobs, J., Klasens, M.,
and Pennings, A., 1971
Excretion of Penicillin from normal
and mastitis quarters after intra-
mammary treatment.
Tijdschr. Diergeneesk., 96, 721
28. Kerr, W.R., and
Rankin, J.E.F., 1959
The bovine udder and its agglutinins.
Br. et. J. 115, 105 - 119
29. Klatt, C.H., und
Westmarck, H.,
zit. nach Walser, K., et al. (49)
30. Larson, B.L., und
Kendall, K.A., 1957
Changes in specific blood serum protein
levels associated with parturition in
the bovine.
J. Dairy Sci. 40, 659
31. Mercer, D., Geleta, J.N.,
Schulz, E.J., and
Wright, W.W., 1970
Milk - Out rates for antibiotics in intra-
mammary infusion produkts used in the
treatment of bovine mastitis : Relation-
ship level and drug vehicle.
Am. J. vet. Res. 31, 1549
32. Merk, C.C., 1976
Therapie von Mastitiden.
Tierärztl. Prax., 4, 7 - 18

33. Norcross, N.L., and Stark, D.M., 1970
Immunity to mastitis : A review.
J. Dairy Sci. 53, 387 - 393
34. Oehme, F.W., and Coles, E.H., 1967
Field use and evaluation of a vaccine for bovine staphylococcic mastitis.
J. Dairy Sci. 50, 1792 - 1797
35. Pierce, A.E., und Feinstein, A., 1965
Biophysical and Immunological Studies on Bovine Immune Globulins with Evidence for Selective Transport within the Mammary Gland from Maternal Plasma to Colostrum.
Immunology 8, 106
36. Ramon, G., Richou, R., Delauney, G., et Gerbeaux, C., 1952
Sur la production, chez les bovidés, de l' entitoxine staphylococcique α au moyen de l' anatoxine spécifique seule, ou additionnée d' hydroxyde d' aluminium.
C. r. Acad. Sci., Paris 234, 1657 - 1659
37. Ramon, G., Richou, R., Julianne, P., et Jacquet, J., 1953
De l' influence comparée des suspensions de staphylococques et de colibacilles tués (anavaccins) et de l' alun de potassium sur l' immunité engendrée, chez les bovidés par l' anatoxine staphylococcique.
Bull. Off. int. Epizoot. 39, 610 - 618
38. Rasmussen, F., 1972
The concentrations of sulphonamides in blood plasma and the mammary lymph node after intramammary application in cows.
Nord. Vet. Med. 24, 286
39. Reiser, R., 1967
Erfahrungen in der tierärztlichen Praxis in der Behandlung von Mastitiden.
Tierärztl. Umsch., 22, 583 - 586
40. Richou, R., Quinchon, C., et Richou, H., 1961
Sur l'immunité antitoxique développée chez la vache à la suite d'injections intramammaires d' anatoxine staphylococcique.
C. r. Acad. Sci., Paris 235, 754 - 756

41. Schalm, O.W., 1944
Gangrenous mastitis in dairy cows.
Vet. Med. 39, 279 - 284
42. Slanetz, L.W., Bartley, C.H.,
and Allen, F.E., 1959
The immunization of dairy cattle against
staphylococcal mastitis.
J. Am. vet. med. Ass. 134, 155 - 161
43. - dieselben -, 1963
Vaccination of dairy cattle against
staphylococcal mastitis
Am. J. vet. Res. 24, 923 - 932
44. - dieselben -, 1965
Evaluation of cell - toxoid vaccines
for the vaccination of dairy cattle
against staphylococcal mastitis.
Am. J. vet. Res. 26, 688 - 695
45. Steck, F.T., 1962
Die Übertragung von Gammaglobulinen auf
das neugeborene Kalb mit dem Colostrum.
Schweiz. Arch. Tierheilk. 104, 525
46. Thörne, H., Neumüller, C.,
und Nilson, P.O., 1963
The antistaphylococcal titre in cattle
after subcutaneous and intramuscular
treatment, respectively with a combined
staphylococcal vaccine.
Acta path. microbiol. scand. 58, 321 - 324
47. Tolle, A.,
zit. nach Gaudlitz, K., und Czernicki, B.,
(18)
48. Varga, J., und
Korzenszky, E., 1974
Resistenzentwicklung gegen Antibiotica
und Übertragung der Resistenz.
Untersuchungen an E.coli und Salmonellen-
stämmen.
landwirtschaftl. Zentralbl. 1/ 1975, 1054
49. Walser, K., und
Mitarbeiter, 1972
Klinische Beiträge zur Kenntnis der akuten
Mastitis (Mastitis akuta gravis) des
Rindes. 1. Mitt.: Häufigkeit und Ätiologie.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 85, 305 - 309
50. Walzl, H., Hunyady, G.,
und Radu, N., 1966
Die Gammaglobulintherapie bei Haustieren.
Wien. Tierärztl. Mschr. 53, 571 - 586

51. Weidanz, W.P.,

zit. nach Götze, P., Meyer, J., und
Buschmann, H., (23)

52. Witmer, G.,

zit. nach Hässig, A., (25)

Bei Herrn Prof. Dr. H. Buschmann möchte ich mich ganz herzlich
für die Überlassung des Themas und für die jederzeit gewährte
hilfreiche Unterstützung bedanken.

Lebenslauf

Am 2. Juli 1945 wurde ich, Ruprecht Wiener, als Sohn des Eugen Wiener und seiner Ehefrau Elfriede, geborene Lutz, in Rottenburg am Neckar geboren.

Nach 4 Volksschuljahren in Gerolzhofen / Unterfranken besuchte ich 1955 zunächst für zwei Jahre das Alte Gymnasium in Würzburg, um dann in das Humanistische Gymnasium Metten überzuwechseln, wo ich im Jahre 1965 das Abitur ablegte.

Danach diente ich für zwei Jahre als Soldat in der Bundeswehr.

Das Studium der Tiermedizin begann ich 1968 an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München. Im Mai 1974 beendete ich das Studium mit dem Staatsexamen.

